

João Guilherme Marchezim de Oliveira Dias

**Fatores que influenciaram o sucesso da inseminação
artificial, com sémen refrigerado, numa população
ovina constituída por Merinas Pretas e Merinas Brancas**

Orientador: Professor Doutor Carlos Manuel Varela Bettencourt

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2019

João Guilherme Marchezim de Oliveira Dias

**Fatores que influenciaram o sucesso da inseminação
artificial, com sémen refrigerado, numa população
ovina constituída por Merinas Pretas e Merinas Brancas**

Dissertação defendida em provas públicas
na Universidade Lusófona de
Humanidades e Tecnologias no dia 03/ 12
2019), perante o júri, nomeado pelo
Despacho de Nomeação n.º: **285/2019**,
com a seguinte composição:

Presidente do Júri: Professora Doutora
Laurentina Pedroso

Arguente: Professora Doutora Ângela
Dâmaso

Orientador: Professor Doutor Carlos
Bettencourt

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2019

Agradecimentos

Quero agradecer a todos os colaboradores que me receberam de braços abertos na Herdade da Abóbada, local onde realizei o estágio. Pessoas com quem aprendi muito e foram uma fonte de generosidade e carinho inesgotável ao longo do meu percurso.

A todos os docentes com quem aprendi nesta instituição, em especial ao meu orientador, Professor. Dr. Carlos Bettencourt pela forma como me recebeu e por toda a amizade e paciência.

Um cumprimento à Engenheira Ana Carrasco colaboradora da ANCORME, pela ajuda na recolha de dados e pela simpatia sempre presente.

Ao Dr. Telo da Gama pela ajuda no tratamento estatístico dos meus dados, sem ele não seria possível a realização deste trabalho.

A todos os meus colegas sem exceção, pelos momentos que partilhámos que ficarão eternamente guardados, aos colegas verdadeiros um cumprimento especial.

Aos meus amigos de muitas lutas, obrigado por acreditarem sempre e me tornarem mais forte. E a quem surgiu na minha vida e me impulsionou a sonhar mais alto.

À minha família que sem ela eu não era ninguém, Joana, Denise, Cristina, Iracema, Sílvia, Daisy, Mário, João, José, Joaquim e Leonardo, que mesmo em momentos de muita dificuldade, nunca me deixaram desanimar e estiveram sempre do meu lado.

Resumo

A inseminação artificial (IA) é a tecnologia reprodutiva com maior impacto na produção animal em todo o mundo. Em ovinos, a IA contribuiu, significativamente, para o melhoramento da genética dos rebanhos a nível mundial. No entanto, esta técnica é limitada, em comparação com outras espécies domésticas, por estar associada a resultados de fertilidade baixos e irregulares.

Com o presente trabalho, pretendeu-se avaliar quais os fatores com maior impacto no sucesso da IA com sémen refrigerado em ovinos das raças Merina Preta (MP) e Merina Branca (MB), com o objetivo de, futuramente, melhorar os resultados da técnica e ajudar em planos de melhoramento animal nesta espécie. Os fatores avaliados foram: raça, exploração, idade das fêmeas, local de deposição do sémen, e condição corporal (CC).

Para a realização do nosso estudo, procedeu-se à inseminação de 419 ovinos pertencentes ao esquema de seleção da Associação Nacional de Criadores de Ovinos da Raça Merina (ANCORME). Os dados recolhidos foram registados aquando da inseminação.

Os fatores exploração, idade da fêmea e local de deposição do sémen demonstraram ser fatores com um impacto significativo no sucesso do nosso estudo. O fator raça e a CC não entraram para o modelo estatístico. Em relação ao fator exploração este demonstrou-se significativo no sucesso da IA, sendo que as variáveis **Dg+** e a **fertilidade** influenciaram positivamente ($p < 0.05$), a **prolifidade** demonstrou ser significativa em relação ao fator idade ($p < 0.05$) e a **fertilidade** demonstrou ter efeito significativo ($p < 0.05$) perante o local de deposição do sémen.

Estes fatores devem ser tidos em conta de forma a avaliar a performance da técnica sendo pontos importantes a calcular, na realização de programas de melhoramento animal em ovinos.

Palavras-chave: Ovinos, sémen refrigerado, inseminação artificial, programa de melhoramento, fatores importantes, reprodução.

Abstract

Artificial insemination (AI) is the reproductive technology with the greatest impact on livestock production worldwide. In sheep AI has contributed significantly to the improvement of herd genetics worldwide. However, this technique is limited compared to other domestic species because it is associated with low and irregular fertility results.

The present work aimed to evaluate which factors have the greatest impact on the success of AI with refrigerated semen in Merina Preta (MP) and Merina Branca (MB) sheep in order to improve the results of the technique in the future, and assist in animal breeding plans in this species. The factors evaluated were breed, farm, age of the female, place of semen deposition, and body condition score.

To carry out our study, 419 sheep were inseminated in the selection scheme of the National Association of Merine Sheep Breeders (ANCORME). These sheep were inseminated and data were recorded at insemination time.

The factors farm, female age and place of semen deposition proved to be factors with a significant impact on the success of our study. The breed factor and body condition score did not enter the statistical model. The variables **Dg+** and **fertility** showed to be significant in the farm factor in the success of AI ($p < 0.05$), **prolificacy** was significant in the age factor ($p < 0.05$) and **fertility** showed significant effect ($p < 0.05$) in semen deposition site.

These factors should be taken into account in order to evaluate the performance of the technique and important points to calculate when conducting animal breeding programs in sheep.

Key-words: Sheep, cooled semen, artificial insemination, breeding program, animal reproduction.

Abreviaturas/Acrónimos

ANCORME: Associação Nacional de Criadores de Ovinos de Raça Merina

BPGA: Banco Português de Germoplasma Animal

CC: Condição corporal

CEBA: Centro de Experimentação do Baixo Alentejo.

CEBAL: Centro de Biotecnologia Agrícola e Agroalimentar do Alentejo

CIDR: *Controlled internal drug release*

CL: Corpo lúteo

CN: Cabeças Normais

CRAHA: Centro de Reprodução Animal Herdade da Abóbada

Dg+: Diagnóstico de gestação positivo aos 45 dias

EP: Erro padrão

eCG: *Equine chorionic gonadotrophin*

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations

FGA: Acetato de fluorogestona

FSH: Hormona folículo estimulante

GnRH: *Gonadotropin-releasing hormone*

IA: Inseminação artificial

IM: Intramuscular

Kg: Quilograma

LH: Hormona luteinizante

mg: Miligramas

mL: Mililitros

MIP: Motilidade individual progressiva

MPA: Acetato de medroxiprogesterona

PGF_{2α}: Prostaglandina F₂

rPDdi (%): Precisão da Estimativa do Valor Genético para a Capacidade de Crescimento até X dias

rPDma (%): Precisão da Estimativa do Valor Genético para a Capacidade Maternal até aos X dias

rPROL (%): Precisão da estimativa do valor genético para a prolificidade

spz: Espermatozóide(s)

TRA: Tecnologias de Reprodução Assistida

UE: Universidade de Évora

UI: Unidades Internacionais

VA: Vagina artificial

VG-PDdi: Valor Genético para a Capacidade de Crescimento até X dias (Kg)

VG-PDma: Valor Genético para a Capacidade Maternal até X dias (Kg)

VG-PROL: Valor Genético para a Prolificidade (nº de borregos/parto)

Índice Geral

Agradecimentos	iii
Resumo.....	iv
Abstract.....	v
Abreviaturas/Acrónimos	vi
Índice de Gráficos	xii
Índice de Tabelas.....	xiii
Índice de Figuras	xv
Relatório de estágio	1
1. Localização e descrição do local.....	1
2. Descrição do estágio.....	1
3. Distribuição dos casos por espécie pecuária.	2
4. Descrição da casuística por área de intervenção	3
5. Ovinos e caprinos	3
5.1. Maneio da exploração	3
5.1.1. Maneio da sala de ordenha.....	3
5.1.2. Vacinação e desparasitação	4
5.1.3. Recolha de sangue.....	4
5.2. Clínica médica/cirúrgica.....	4
5.2.1. Peeira em ovinos.....	4
5.2.2. Orquite crónica.....	5
5.3. CRAHA.....	5
5.3.1. Inseminação artificial	5
5.3.2. IA laparoscópica.....	5
6. Bovinos	5
6.1. Maneio da exploração	5
6.2. Clínica médica/cirúrgica.....	6
6.2.1. Claudicação	6
6.2.2. Recolha de amostra(lavagem prepucial) para despiste de <i>Campylobacter</i>	6
7. Suínos.....	7
7.1. Maneio da exploração	7
Revisão Bibliográfica.....	8
1. Importância da conservação e melhoramento genético na atualidade	8
1.1. Diversidade genética nas espécies pecuárias no mundo.....	8
1.2. Diversidade genética nas espécies pecuárias em Portugal	8

1.3. Produção de ovinos na atualidade	9
2. Centro de Experimentação do Baixo Alentejo (CEBA)	9
2.1. Programas para a conservação e melhoramento das Raças Merina Preta e Merina Branca	10
3. Reprodução em pequenos ruminantes	10
3.1. Anatomia e fisiologia reprodutiva da ovelha	10
3.2 Anatomia e Fisiologia Reprodutiva do Carneiro	14
3.3. Seleção dos machos	16
3.4. Exame andrológico.....	17
3.4.1. Circunferência escrotal	17
3.4.2. Tónus testicular	17
3.4.3. Recolha de sémen.....	18
3.4.4. Análise Seminal.....	19
4. Técnicas de Reprodução Assistida (TRA)	20
4.1. Inseminação artificial.....	20
4.1.1. Técnica de inseminação vaginal.....	21
4.1.2. Técnica de inseminação cervical	21
4.1.3. Inseminação com sémen refrigerado	22
5. Fatores que afetam a fertilidade à IA em ovinos	22
5.1. Fatores associados à fêmea.....	22
5.1.1. Raça	22
5.1.2. Exploração	23
5.1.3. Idade da ovelha	23
5.1.4. Local de deposição do sémen	24
5.1.5. Condição corporal e peso corporal	25
5.1.6. Sémen fresco, refrigerado e congelado.....	25
5.1.7. Época de inseminação.....	25
5.2. Fatores associados ao macho	26
6. Sincronização de cio	26
6.1. Dispositivos intravaginais.....	27
6.2. Progesterona e análogos	27
6.3. Prostaglandina e análogos.....	27
6.4. Implantes auriculares de melatonina	28
7. Ecografia reprodutiva em pequenos ruminantes	30
8. Objetivos do estudo.....	32
1. Estudo.....	33
1.1. Materiais e métodos	33

1.1.1.	Animais.....	33
1.1.2.	Raça.....	33
1.1.3.	Exploração.....	33
1.1.4.	Idade das ovelhas.....	33
1.1.5.	Local de deposição do sémen.....	34
1.1.6.	Condição corporal (CC).....	34
1.2.	Programa de IA.....	34
1.2.1.	Preparação das fêmeas.....	34
1.2.2.	Preparação dos machos.....	34
1.2.3.	IA, <i>timings</i> e técnica.....	35
1.2.4.	Diagnóstico de gestação.....	35
1.2.5.	Registos ao parto.....	36
1.3.	Análise estatística.....	36
2.	Resultados.....	36
2.1.	Raça.....	36
2.2.	Exploração.....	37
2.2.1.	Análise de regressão logística em relação às variáveis de resposta.....	37
2.2.2.	Diagnóstico de gestação.....	38
2.2.3.	Fertilidade.....	38
2.2.4.	Prolificidade.....	39
2.3.	Idade.....	39
2.3.1.	Análise de regressão logística em relação às variáveis de resposta.....	40
2.3.2.	Diagnóstico de gestação.....	40
2.3.3.	Fertilidade.....	41
2.3.4.	Prolificidade.....	41
2.4.	Local de deposição do sémen.....	42
2.4.1.	Análise de regressão logística em relação às variáveis de resposta.....	42
2.4.2.	Diagnóstico de Gestação.....	42
2.4.3.	Fertilidade.....	43
2.4.4.	Prolificidade.....	43
2.5.	Condição corporal (CC).....	43
3.	Discussão.....	44
3.1.	Raça.....	44
3.2.	Exploração.....	45
3.3.	Idade.....	45
3.4.	Local de deposição do sémen.....	46
3.5.	Condição corporal (CC).....	46

Conclusão	47
Anexos	I
Anexo I - Protótipo racial do regulamento do registo Zootécnico da raça Merina Preta.	I
Anexo II -Protótipo racial do regulamento do registo Zootécnico da raça Merina Branca...	III

Índice de Gráficos

Gráfico 1 Percentagens relativas aos casos observados no período de estágio por espécie pecuária.....	2
---	---

Índice de tabelas

Tabela 1: Casuística de estágio por espécie animal e área	3
Tabela 2: Tempo de gestação em dias em ovinos e caprinos. Error! Bookmark not defined.	
Tabela 3: Resumo das características dos principais tratamentos farmacológicos disponíveis para controlar a reprodução em pequenos ruminantes (Adaptado de Abecia et al., 2011)	29
Tabela 4: Achados ultrassonográfico nas várias fases da gravidez (em dias) (adaptado de (Pugh & Baird, 2012)).....	31
Tabela 5: Nº de fêmeas inseminadas, nº de fêmeas Dg+ e nº de fêmeas paridas por raça.	36
Tabela 6: Tabela de frequências relativa às várias explorações avaliadas para as variáveis Dg+ e fertilidade.....	37
Tabela 7: Valores de P-value para as variáveis de resposta, Dg+ e Fertilidade e prolificidade.	37
Tabela 8: Tabela com diferenças de ODDS-Ratio por exploração relativas à variável fixa Dg+	38
Tabela 9: Tabela com diferenças de ODDS-Ratio por exploração relativas à variável fixa fertilidade.....	39
Tabela 10: Valores de médias ponderadas e erro padrão por exploração.....	39
Tabela 11: Tabela de frequências (%) em relação à idade dos animais.....	40
Tabela 12: Análise de regressão logística em relação às variáveis de resposta, Dg+ e fertilidade e prolificidade.	40
Tabela 13: Diferença entre ODDS-Ratio, Idade vs Dg+	41
Tabela 14: Diferença entre ODDS-Ratio, idade vs Fertilidade	41
Tabela 15: Médias ajustadas e erro padrão da prolificidade por grupos	41
Tabela 16: Tabela de frequências por local de deposição do sémen.	42
Tabela 17: P-values das variáveis de resposta no nosso estudo para o fator: tipo de IA	42

Tabela 18: Diferenças de ODDS-Ratio para a variável Dg+ e tipo de IA	43
Tabela 19: ODDS- Ratio para a variável fertilidade e tipo de IA.....	43
Tabela 20: Valores de média ajustada e erro padrão da prolificidade.	43
Tabela 21: Análise da fertilidade por categorias de CC: Número de fêmeas inseminadas, taxa de Dg+ e taxa de fertilidade. São 3 categorias (1) corresponde a animais 2; 2.5 na ECC, (2) que corresponde a animais 3;3.5 na ECC, e (3) animais que correspondem a valores> 4 na ECC.....	44

Índice de Figuras

Figura 1: Anatomia do Aparelho reprodutor feminino (Granados, Dias, & Sales, 2006) 11

Figura 2: Representação esquemática dos diferentes eventos fisiológicos que ocorrem durante o ciclo estrico em caprinos: padrão de desenvolvimento folicular, ciclo ovariano e regulação endócrina. Adaptado de acordo com Baril et al. (1993) e Evans (2003) , citado por (Fatet et al., 2011)..... 13

Figura 3: Diagrama esquemático da anatomia reprodutiva do carneiro. T, testículo; U, bexiga urinária; dd, ducto deferente; a, ampola; vs, glândula vesicular; p próstata; b, glândula bulbouretral 14

Figura 4: Espermatogênese: divisão celular e alterações estruturais resultando na formação de espermatozoides.(Frandsen et al.,2013) 15

Figura 5: Animal de raça Merina Branca, reproduzido de Padrão da raça, Retirado a 19 de Julho de 2019 de <http://www.merina.com.pt/conteudo.php?idm=6> III

Figura 6: Ovelhas da raça merina preta, reproduzido de padrão da raça, retirado dia 19 de Julho de 2019 de <http://www.merina.com.pt/conteudo.php?idm=13> II

Relatório de estágio

1. Localização e descrição do local

O Centro de Experimentação do Baixo Alentejo (CEBA) é uma unidade de produção pecuária, situado na Herdade da Abóboda, em Vila Nova de São Bento, concelho de Serpa. O CEBA tem uma lotação máxima estabelecida para 610 Cabeças normais (CN) de bovinos, 50 CN de caprinos, 180 CN de ovinos e 50 CN suínos numa área de pastoreio de 705h e explorados num sistema de produção extensivo, (Bettencourt, 2015).

O CEBA tem, ao longo do seu historial, desenvolvido ações na caracterização, conservação e utilização sustentável de recursos genéticos autóctones. São exemplos desta atividade, o apoio que tem vindo a prestar a associações de criadores, na execução dos seus programas de melhoramento e conservação, nomeadamente das raças bovinas (Mertolenga e Garvonesa), ovinas (Merina Preta, Branca e Campaniça). Caprina (Serpentina) e suína (Raça Alentejana).

Está implementado no CEBA, o Centro de Reprodução Animal Herdade da Abóboda (CRAHA), que se destina a funcionar como centro de colheita de sêmen de pequenos ruminantes, centro de armazenagem de produtos germinais, centro de recolha e armazenamento de embriões de ovinos e caprinos e Pólo do Banco Português de Germoplasma Animal (BPGA).

2. Descrição do estágio

Ao longo do período de estágio curricular, estive envolvido em todas as ações de trabalho do CEBA. Apesar do meu foco ser a área de reprodução animal, em particular, a de pequenos ruminantes (CRAHA), neste estágio foi-me possível abordar, contactar e observar as várias espécies pecuárias existentes, nomeadamente bovinos (raça Mertolenga e Garvonesa), caprinos (serpentina), ovinos (Merina Preta e Branca, campaniça e churra algarvia), e suínos (Porco preto alentejano). Dessa forma, estive envolvido em todos os procedimentos médico veterinários realizados no CEBA, desde saneamentos dos efetivos, até à congelação de sêmen de caprino, por exemplo. Esta grande variedade de espécies que o centro possui, deu-me a oportunidade de conseguir obter conhecimento alargado de todas elas, desde o seu manejo até a abordagens clínicas avançadas, chegando ao

mercado de trabalho com aprendizagem prática em várias espécies, o que considero uma mais-valia. É de referir que também realizei saídas de campo, com um médico veterinário que assiste o centro, o que também foi bastante vantajoso, visto ter assistido a casos clínicos interessantes, possibilitando o conhecimento de várias explorações e contactar produtores, o que considero uma peça chave no sucesso de qualquer médico veterinário.

O horário no centro era um horário fixo, com início às 9h da manhã prolongando-se até às 17h.

Durante o meu estágio, fiquei encarregue de:

- Execução de procedimentos médico-veterinários;
- Maneio, avaliação e treino dos animais que pertenciam ao CRAHA;
- Manutenção das infraestruturas do CRAHA;
- Colaboração em todas as atividades desenvolvidas na área de reprodução, realizadas no CRAHA, em colaboração com a equipa disponível;
- Colaboração em aulas do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias;
- Assistência ao Médico Veterinário assistente do CEBA e CRAHA

3. Distribuição dos casos por espécie pecuária.

A percentagem de casos observados por espécie pecuária encontra-se no gráfico

1.

■ Ovinos ■ Caprinos ■ Bovinos ■ Suínos

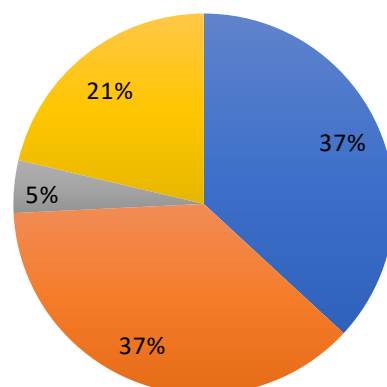


Gráfico 1 Percentagens relativas aos casos observados no período de estágio por espécie pecuária

4. Descrição da casuística por área de intervenção

Na tabela 1, é possível observar a distribuição dos casos observados durante o estágio por diferentes áreas de intervenção e espécie animal, na qual se verifica, que a espécie em que houve um maior número de casos foi na caprina, relacionada com o CRAHA.

Tabela 1 Casuística de estágio por espécie animal e área.

Casuística Valor absoluto (n)	Maneio da exploração	Clínica (médica/cirúrgica)	CRAHA	Total
Ovinos (n)	287	227	518	1032
Caprinos (n)	229	68	748	1045
Bovinos (n)	-	52	73	125
Suínos (n)	539	57	-	596
FR (%) por área de intervenção	38%	14%	48%	100%
Total	1055	404	1339	2798

5. Ovinos e caprinos

5.1. Maneio da exploração

5.1.1. Maneio da sala de ordenha

As práticas de ordenha e o sistema de ordenha podem ter um impacto crítico na saúde do úbere. Os procedimentos, quando realizados incorretamente, podem causar injúrias mecânicas ou podem agir como reservatórios bacterianos em equipamentos sujos e estas ações têm impacto na produção e na saúde geral do rebanho (Pugh & Baird, 2012). As patologias mais relevantes que afetam o úbere são as mastites, clínica e subclínica. No CEBA, acompanhei de perto os procedimentos de ordenha mecânica, tanto de caprinos como de ovinos, o que me permitiu formar uma ideia clara, da forma de maneio necessário

para a realização de uma ordenha e manutenção da tecnologia necessária a este procedimento.

5.1.2. Vacinação e desparasitação

O plano vacinal aplicado nos ovinos é um plano desenhado para cobrir as diversas fases do manejo da exploração. O seu principal objetivo é o de garantir uma imunização eficiente do efetivo. Utilizou-se a vacina comercial Biovina S®, para imunização ativa dos ovinos e caprinos, de forma a reduzir a mortalidade e os sinais clínicos e/ou lesões provocadas pela pasteurelose pneumónica causadas por *Mannheimia haemolytica* serovariante 1 e das enterotoxemias causadas por *Clostridium sordellii* e *Clostridium perfringens* tipo D, agentes importantes na sanidade de ovinos.

Realizámos recolhas de fezes, com o intuito de verificar o estado parasitário do rebanho. Esta ação tem como objetivo, desenvolver um programa eficaz e moderno de controlo de parasitas gastrointestinais. Este é um processo dinâmico, que requer revisão periódica e atualização das práticas de manejo. Relativamente aos ovinos e caprinos, os principais desparasitantes utilizados foram o mebendazol e o closantel sódico di-hidratado (Seponver Plus® - contra formas maduras e larvares de tremátodes e nemátodes gastrointestinais e pulmonares; tratamento de céstodes - segmentos e escólex, e de alguns artrópodes) e o diclazuril (Vecoxan® - *Eimeria crandallis* e *Eimeria ovinoidalis*), nomeadamente, nos borregos e cabritos.

5.1.3. Recolha de sangue

Realizei, por diversas vezes, a recolha de sangue por punção da veia jugular, em ovinos e caprinos. Estes procedimentos foram realizados com o objetivo de admissão de novos animais pelo centro (período de quarentena), fazendo parte do protocolo de controlo de doenças dos machos pertencentes ao CRAHA.

5.2. Clínica médica/cirúrgica

5.2.1. Peeira em ovinos

A peeira é uma doença contagiosa, grave em ovinos e com menor expressão em caprinos. Pode levar a perdas económicas significativas nos efetivos, como resultado da perda de peso. Muitos fatores contribuem para a patogenia da doença, mas o agente primário é a bactéria anaeróbia *Dichelobacter nodosus* (*Bacteroides nodosus*). Durante o estágio no CEBA, fiz parte do programa Gen-Res Alentejo-2020, que é um programa

desenvolvido pela Universidade de Évora (UE) e o Centro de Biotecnologia Agrícola e Agroalimentar do Alentejo (CEBAL), que tinham o intuito de descodificar o genoma da peeira.

5.2.2. Orquite crónica

A orquite é uma condição comum no carneiro e é, ocasionalmente, visto no bode. A orquite pode ser causada por vários organismos entre os quais, *Histophilus*, *Actinobacillus* e *Haemophilus spp.*, assim como *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Os achados clínicos incluem: escroto quente e inchado (geralmente unilateral); incapacidade de mover livremente o testículo afetado no escroto; dor na manipulação do testículo afetado e do escroto. Foi observado um caso em carneiro cujo diagnóstico foi obtido por ecografia escrotal. Desta forma determinou-se que o testículo apresentava uma grande área com fibrose, resultado de uma lesão crónica. A lesão foi considerada irreversível e a hemicastração considerada.

5.3. CRAHA

5.3.1. Inseminação artificial

No CRAHA, as inseminações artificiais tiveram início no mês de Março no efetivo de ovinos e caprinos utilizando sémen refrigerado. Durante o estágio, também fiz parte de ações do programa de melhoramento da raça caprina *Boer*, contribuindo com a inseminação, com sémen congelado, de efetivos desta raça.

5.3.2. IA laparoscópica

Realizámos a inseminação de um efetivo de ovinos de raça pura *Lacaune* através desta técnica e obtivemos uma taxa de sucesso de 58%, 45 dias após a inseminação, Das 48 ovelhas inseminadas, 28 encontravam se prenhas.

6. Bovinos

6.1. Maneio da exploração

Executei procedimentos médico-veterinários e de maneio do CEBA nesta espécie animal. Realizei tarefas que consistiram na identificação de bezeros recém-nascidos com

identificação auricular, pesagens de novilhos para venda. Realizei manejo reprodutivo das vacadas, e realizei exames ecográficos para detetar gestação, cujo objetivo era conseguir maximizar o manejo alimentar pré-parto e eliminação de “vacas problema”. Realizei exames reprodutivos no macho (exame andrológico) antes da entrada da época reprodutiva. Este exame é importante para verificar se os machos se encontram, ou não, aptos para a sua função de reprodutores na manada.

6.2. Clínica médica/cirúrgica

6.2.1. Claudicação

Foi adquirido um touro para ser usado como reprodutor. O animal apresentava problemas de locomoção, claudicação do membro anterior direito. Para garantir a segurança dos operadores, imobilizamos o animal no tronco de contenção e procedemos a um exame de casco. Quando observamos o casco, este apresentava-se com fraturas da parede e textura alterada. Optámos por uma terapia que envolvia a utilização de agentes antimicrobianos (oxitetraciclina de largo espectro), anti-inflamatório, e alterou-se a alimentação do animal, reduzindo a ração e aumentando a quantidade de feno, balanceando o rácio energia/fibra.

6.2.2. Recolha de amostra(lavagem prepucial) para despiste de *Campylobacter*

A vibriose é causada pela bactéria Gram-negativa flagelada curva ou espiralada polar *Campylobacter foetus* subspécies *venerealis* ou *Campylobacter foetus* subspécies *fetus*, sendo a subespecie *venerealis* a de maior importância (Smith, 2015). Este é um parasita obrigatório do trato genital dos bovinos e a doença é transmitida por via venérea. As bactérias causam a morte embrionária precoce, uma estação de parto prolongada, infertilidade e, ocasionalmente aborto dos quatro aos 8 meses de gestação (Smith, 2015). Os sinais clínicos desta doença em vacas, normalmente estão ausentes. A recolha de lavagens prepuciais para deteção de *campylobacter* não era um procedimento corrente no CEBA, no entanto foi realizado, porque houve a requisição de compra de novilhos para reprodução por parte de um criador e este exigia que estes estivessem livres desta vibriose. O procedimento consiste em colocar o touro no tronco de contenção e realizar uma lavagem prepucial e recolha de líquido para análise.

7. Suínos

7.1. Maneio da exploração

No CEBA, uma das espécies presentes é a suína (porco preto alentejano). Esta espécie possui um maneio no centro, que engloba as várias fases da produção, desde a maternidade até à fase de acabamento “montanheira”. Durante o meu estágio, estive envolvido no saneamento dos efetivos, tanto a nível de desparasitação e vacinação, como no processo de castração de machos. Esta raça por norma é explorada num regime extensivo ou semiextensivo.

Revisão Bibliográfica

1. Importância da conservação e melhoramento genético na atualidade

1.1. Diversidade genética nas espécies pecuárias no mundo

Atualmente, a conservação de recursos genéticos de animais para produção agrícola e alimentar compõem uma componente biológica básica importante na segurança alimentar mundial (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2010). Nos países em desenvolvimento, a produção de gado constitui cerca de 30% do volume de produção e está projetado que chegará aos 40% em 2030 (FAO,2007). Ainda assim, o Banco Mundial estima que a produção doméstica de carne precisa de aumentar em 80%, entre 2000 e 2030. Para tal, é necessário adaptar formas mais eficientes de sistemas de produção animal, através de uma produção cuidadosa dos recursos naturais e a implementação de medidas para reduzir o desperdício e a poluição ambiental (FAO, 2010).

Existem 7616 raças de espécies pecuárias registadas na base de dados da (FAO, 2007). Nos últimos 15 anos extinguíram-se 190 e outras 1500 estão consideradas em vias de extinção. Como tal, as biotecnologias assumem um papel determinante por auxiliarem os programas de melhoramento genético, providenciarem e garantirem a integridade dos procedimentos na produção de pequenos ruminantes; e ainda por estimularem oportunidades para o fomento de novos produtos, enquanto apoiam a saúde animal (Gama & Bressan, 2011).

1.2. Diversidade genética nas espécies pecuárias em Portugal

Pode se destacar Portugal como um país que possui uma localização geográfica especial, devido à sua marcada diversidade genética animal. No Continente e ilhas, existem cerca de 50 raças autóctones de espécies pecuárias: 16 raças ovinas, 6 caprinas, 3 de suínas, 15 de bovinos, 4 de equinas, 2 de asininos, e 4 de galináceos (Carolino, 2015). Contudo, a maioria destas raças encontra-se em risco de extinção, o que confere uma responsabilidade acrescida em assegurar a sua conservação a longo prazo. Neste sentido, é importante promover a preservação das raças autóctones pelos criadores, bem como o desenvolvimento de programas de conservação de Germoplasma, que permitam a salvaguarda do património genético ameaçado (Carvalho, 2017).

1.3. Produção de ovinos na atualidade

No ano de 2016 existiam no mundo 1.173 milhões de ovinos. A grande maioria encontra-se no continente asiático, o maior detentor da espécie, que conta com 43,6% do efetivo mundial. Seguem-se África, Europa, Oceânia e América, com 30%, 11,2%, 8,1% e 7,1% da totalidade dos ovinos a nível mundial, respetivamente. Os principais produtores mundiais de ovinos são a China, Austrália, Índia, Irão, Nigéria, Sudão, Reino Unido, Turquia, Etiópia e Paquistão (FAOSTAT, 2017).

Juntos, estes dez países detinham, em 2016, 46,3% do efetivo mundial, tendo o setor chinês contribuído com praticamente 30% da produção dos dez países, representando 13,8% da produção global (Vítor, 2018). No que toca à produção de carne, em 2016 foram produzidos e abatidos 551 milhões de ovinos a nível mundial, tendo a produção aumentado 0,6% em relação ao ano anterior. O continente asiático foi o principal produtor de carne ovina, sendo responsável por 52,6% da produção. Seguiram-se África (18,8%), Oceânia (12,5), Europa (12%) e América (4,1%) (FAOSTAT, 2017).

Em relação a Portugal, este encontra-se na 67^a posição a nível mundial como país detentor de ovinos, sendo o 10^o a nível europeu (FAOSTAT, 2017). Em 2016, existiam no seu território 2.068.000 ovinos. A região de Portugal Continental detém 99,6% do efetivo total e a maior parte dos animais desta espécie encontra-se na Região Agrária do Alentejo, detentora de 56% do efetivo ovino nacional (INE, 2011). No mesmo ano, foram abatidos no país 833.784 animais, que representaram 10.016 toneladas de carne (INE, 2017).

2. Centro de Experimentação do Baixo Alentejo (CEBA)

O CEBA, é uma unidade de produção pecuária situado na Herdade da Abóboda, em Vila Nova de São Bento (Bettencourt, 2015).

Os objetivos do CEBA consistem no desenvolvimento de ações na caracterização, conservação e utilização sustentável de recursos genéticos autóctones - apoiar associações de criadores na execução dos seus programas de melhoramento e conservação, de raças bovinas (ex.: Mertolenga e Garvonesa), ovinas (Merina Branca, Preta e Campaniça), caprinas (ex.: Serpentina) e suínas (ex.: raça Alentejana); execução de programas de manejo reprodutivo e apoio técnico na IA; funcionar como polo de duplicados do BPGA. O

CEBA guarda o material genético crio-preservedo das raças ovinas e caprinas do Sul, que integram o BPGA e a execução da IA na raça bovina Mertolenga, ovinas Merina Preta, Branca e Campaniça e caprina Serpentina (Bettencourt, 2015).

2.1. Programas para a conservação e melhoramento das Raças Merina Preta e Merina Branca

Em Portugal, existe a ANCORME, que tem como objetivo a prática de registo e melhoramento das raças MP e MB. Esta associação dedica-se ao acompanhamento e submissão de efetivos, cujo objetivo é a admissão no livro genealógico da raça, sendo que, os animais admitidos têm que estar de acordo com o padrão da raça (ver Anexo I e II) (ANCORME, 2008). O seu programa de conservação e melhoramento genético animal baseia-se no controlo de performances de crescimento dos borregos nas explorações aderentes e os parâmetros avaliados são: características étnicas e morfológicas; avaliação do crescimento para registo de adultos; apoio técnico relativo ao manejo do rebanho; identificação eletrónica definitiva dos admitidos; avaliação e caracterização genética; apoio à IA; testes de paternidade; contraste lanar; e promoção da raça (ANCORME, 2008).

As raças MP e MB são especialmente importantes em Portugal, sobretudo na região do Alentejo. Atualmente constam no livro genealógico da raça MP, 14517 Fêmeas inscritas, 756 machos e 63 criadores na raça MB, 10042 Fêmeas inscritas, 612 machos e 27 criadores (SPREGA, 2016).

3. Reprodução em pequenos ruminantes

3.1. Anatomia e fisiologia reprodutiva da ovelha

O sistema reprodutivo dos mamíferos é comandado por dois sistemas regulatórios: o sistema endócrino e o sistema nervoso. Cada um tem um funcionamento específico e a interação entre os dois é fundamental para a cascata de eventos, que resulta no nascimento e criação de uma descendência saudável (Frandsen, Wilke, & Fails, 2013).

O trato reprodutivo feminino dos mamíferos produz gâmetas femininos (oócitos). É constituído por, dois ovários, duas trompas uterinas (também chamadas de ovidutos ou tubas uterinas), útero, vagina e vulva (figura 2). (Frandsen et al., 2013) . O cérvix de ovino

tem uma anatomia peculiar, que se caracteriza por ser retorcido e tortuoso, devido à presença de 4 a 7 anéis direcionados caudalmente. Estes constituem uma barreira física à contaminação externa, mas também à IA transcervical, uma vez que, além de se projetarem para dentro do lúmen, frequentemente se verifica que o segundo e o terceiro anel se encontram desalinhados em relação ao primeiro, fazendo com que a pipeta de inseminação seja desviada do lúmen. (Intervet International, 2007)

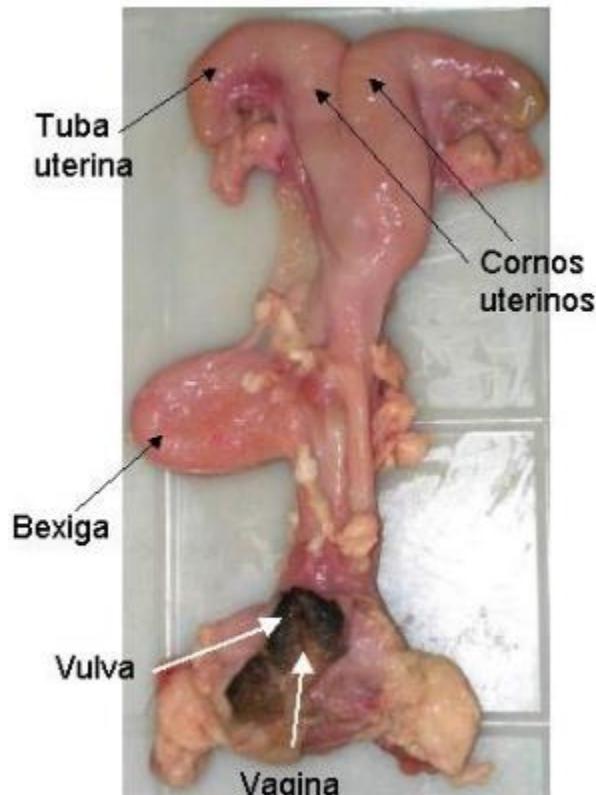


Figura 1 Anatomia do Aparelho reprodutor feminino (Granados, Dias, & Sales, 2006)

3.1.1. Ciclo Éstrico

O ciclo éstrico consiste em todas as alterações morfológicas e fisiológicas nos ovários e no trato genital feminino, levando a uma expressão do estro (fase de receptividade em relação aos machos), nomeadamente: ovulação, preparação do trato genital para a cópula, fertilização e implantação embrionária. (Fatet, Pellicer-Rubio, & Leboeuf, 2011). Na ovelha, o ciclo éstrico é de 17 dias (com um intervalo de 14 a 19 dias) e o cio dura entre 15 e 45 horas (com uma média de 30 horas) (Pugh & Baird, 2012).

O estro é dependente de vários fatores, como latitude, clima, raça, estado fisiológico, presença do macho, sistema reprodutivo e, especificamente, fotoperíodo. (Fatet et al., 2011) A informação foto periódica traduz-se em alterações neuro endócrinas, através de variações na secreção de melatonina da glândula pineal (Fatet et al., 2011). A

melatonina, secretada na glândula pineal, desencadeia variações na secreção de *luteinising hormone-releasing hormone* (GnRH) Hormona luteinizante (LH) e hormona folículo estimulante (FSH) ((Fatet et al., 2011)

Durante o ciclo éstrico, os ovários sofrem um número de alterações morfológicas (recrutamento e crescimento folicular), bioquímicas (maturação folicular) e fisiológicas (regulação endócrina), que levam à ovulação. Essas mudanças cíclicas nas gônadas são chamadas de ciclo ovárico (Fatet et al., 2011) . O crescimento folicular evolui de maneira semelhante a uma onda ao longo do ciclo (Fig. 3). Uma onda folicular é caracterizada pela sequência de três eventos dependentes de gonadotrofinas no crescimento folicular: recrutamento, seleção e dominância(Fatet et al., 2011).

O ciclo ovárico é, classicamente, dividido em duas fases: a fase folicular e a fase lútea (Fig. 3). A fase folicular corresponde ao desenvolvimento de onda folicular, formando o folículo ovulatório e envolve a maturação dos folículos dependentes de gonadotrofina até a ovulação (fase terminal de crescimento).(Fatet et al., 2011) Durante a fase folicular, a FSH secretada pela glândula pituitária estimula o crescimento folicular. A fase lútea começa após a ovulação. Cerca de 5 dias após o início do estro, as células do folículo ovulatório transformam-se em células luteais e formam o corpo lúteo (CL),(Fatet et al., 2011). Estas secretam progesterona, fazendo com que suas concentrações aumentem e permaneçam num nível elevado ($> 1 \text{ ng / ml}$) durante 16 dias. Durante a fase lútea, o crescimento folicular dependente de gonadotrofinas, continua de maneira semelhante a uma onda, mas a progesterona inibe a ovulação.(Fatet et al., 2011) No final da fase lútea, 16-18 dias após o cio, a prostaglandina $\text{pgF}_{2\alpha}$ secretada pelo útero não gravídico induz a regressão do CL - chamada luteólise e, consequente, diminuição da secreção de progesterona.(Fatet et al., 2011). A diminuição das concentrações plasmáticas de progesterona remove, gradativamente, a inibição da secreção de hormonas gonadotróficas e inicia-se uma nova fase folicular (Baril et al., 1993).

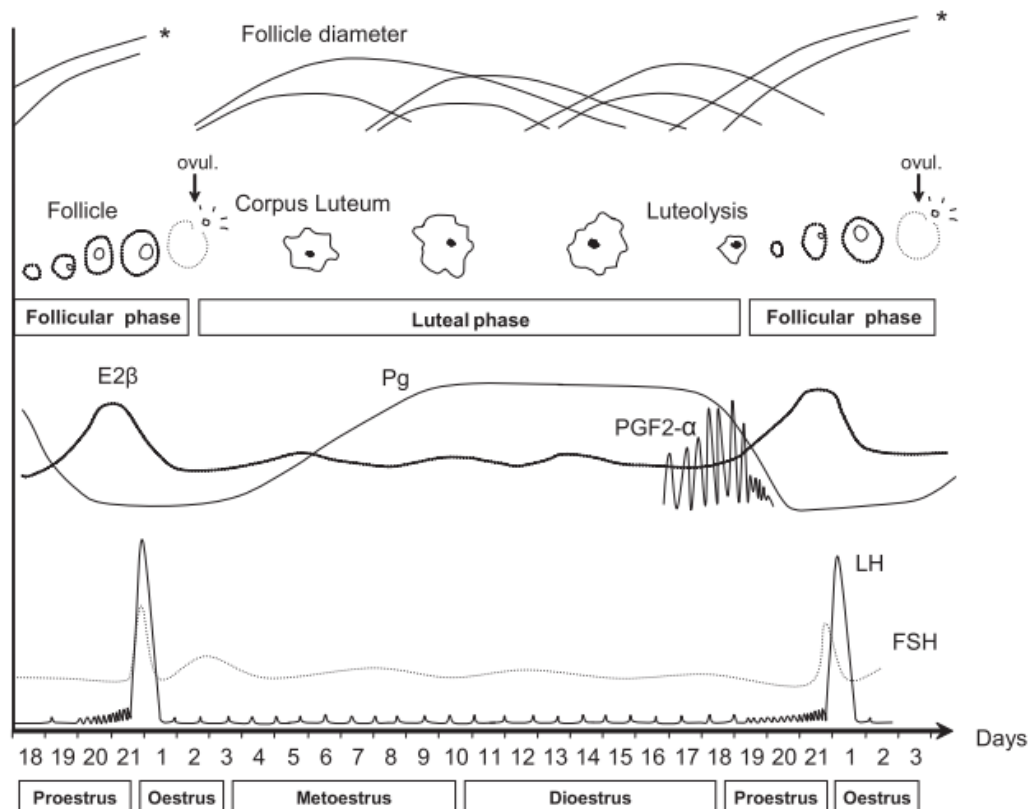


Figura 2 Representação esquemática dos diferentes eventos fisiológicos que ocorrem durante o ciclo estrico em caprinos: padrão de desenvolvimento folicular, ciclo ovariano e regulação endócrina. Adaptado de acordo com Baril et al. (1993) e Evans (2003) , citado por (Fatet et al., 2011)

Próximo da altura de estro, os folículos maiores, induzidos pela onda folicular da FSH, começam a produzir mais estradiol. O hipotálamo é estimulado para secretar GnRH, o que resulta na libertação de LH pela glândula pituitária anterior. Este pico de LH ocorre, tipicamente, cerca de 9 horas após o início do estro. A alta concentração de estradiol é, parcialmente, responsável pelo facto de a ovelha mostrar sinais de estro. Os ovinos ovulam no terço final do estro, ou, ocasionalmente, após o fim da exibição do seu comportamento do estro. A ovulação, geralmente, ocorre 14 a 26 horas após o pico de LH. Este tempo coincide com, aproximadamente, 21 a 45 horas após o início do estro. (Pugh & Baird, 2012).

3.2 Anatomia e Fisiologia Reprodutiva do Carneiro

O sistema reprodutivo do macho consiste em dois testículos, escroto, glândulas acessórias, que incluem os ductos e glândulas e o pênis. Os testículos produzem espermatozóides (spz) e testosterona (a hormona sexual masculina)(Frandsen et al., 2013)

Os órgãos e as glândulas, que pertencem ao trato reprodutivo masculino (ver figura 4), têm, como objetivo, a produção do gameta masculino, spz e a sua transmissão ao trato reprodutivo feminino.

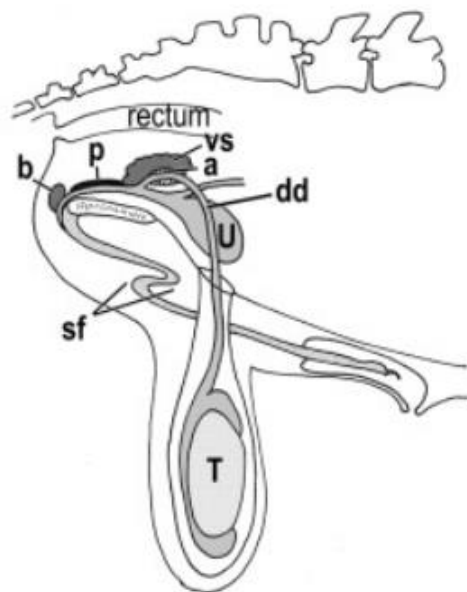


Figura 3 Diagrama esquemático da anatomia reprodutiva do carneiro. T, testículo; U, bexiga urinária; dd, ducto deferente; a, ampola; vs, glândula vesicular; p, próstata; b, glândula bulbouretral adaptado de (adaptado de Pugh and Baird, 2012)

Os testículos têm, como funções principais, a produção de spz, hormonas sexuais masculinas, entre elas a testosterona que é responsável pelo desenvolvimento das características sexuais secundárias (desenvolvimento correto das glândulas acessórias) e pelo comportamento sexual (Frandsen et al., 2013). Em muitos mamíferos, esse processo de espermatogénese ocorre dentro do túbulo seminífero em todo o sistema reprodutivo da vida útil do macho. Em algumas espécies, é interrompido ou subdividido numa série de fases distintas, com base em fatores ambientais, que são traduzidos em sinais hormonais, que estimulam ou inibem a espermatogénese (Ex: espécies sazonais) e que é o caso dos ovinos e caprinos(Frandsen et al., 2013).

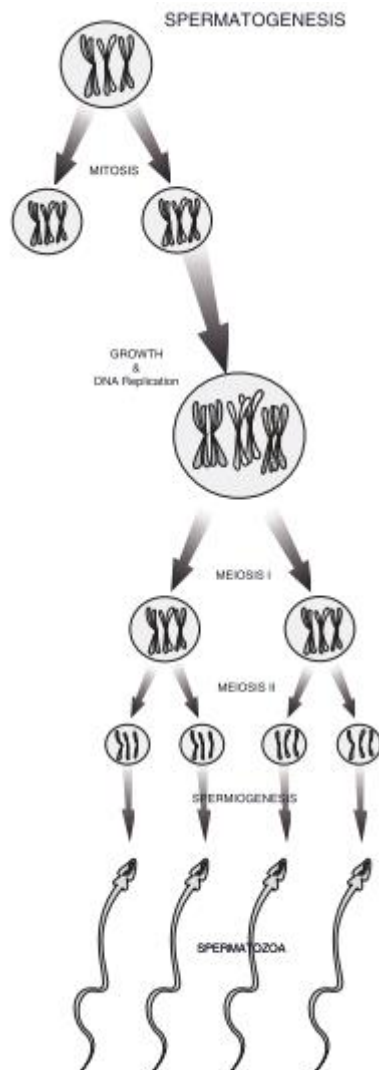


Figura 4 Espermatogênese: divisão celular e alterações estruturais resultando na formação de spz (adaptado de Frandson et al., 2013)

A espermatogênese é o processo reprodutivo responsável pela formação de spz maduros, que inclui várias divisões celulares mitóticas seguidas por duas divisões celulares meióticas, durante as quais o número de cromossomos é reduzido de diplóide a haplóide. Esta série de divisões celulares é denominada espermatocitogênese (Fig.5)(Frandson et al., 2013). O tempo necessário para a espermatogênese (da espermatogônia a spz totalmente formados e prontos a serem libertados) varia com as espécies num período de cerca de 2 meses.(Frandson et al., 2013)

A produção diária de spz, no carneiro, é estimada em $4,4 \times 10^9$ (Frandson et al., 2013)

Os ovinos e os caprinos são espécies sazonais, esta sazonalidade é menos marcada no macho do que na fêmea. Está reportado que certas características como

volume testicular, perfil hormonal, comportamento sexual e qualidade do sêmen, são influenciados pela época do ano e afetam a performance reprodutiva. Há fatores que influenciam o tamanho testicular, como, por exemplo, o estado social (dominância), a nutrição, saúde e idade. Estes fatores podem influenciar a atividade testicular e, portanto, a fertilidade do macho. (Casao et al., 2010)

O tamanho e a organização estrutural dos testículos podem variar com a estação do ano, Isto é particularmente evidente em espécies que vivem a altas latitudes, onde o desenvolvimento testicular e a atividade podem ser regulados periodicamente ou onde há um ritmo circadiano endógeno.(Hammond, 1960).

A circunferência escrotal é utilizada como parâmetro de avaliação de solidez reprodutiva em carneiros (Ridler, Smith, & West, 2012). Esta característica está também associada ao aumento do volume de ejaculado e à motilidade espermática em carneiros adultos. Em carneiros, foram reportadas diferenças acima de 30%, no volume testicular desde a Primavera até ao Outono. A puberdade nos pequenos ruminantes está relacionada com a idade e o peso corporal. A maioria dos carneiros/bodes atingem a puberdade com a idade de 4-6 meses e 60% do peso em adulto (Ridler et al., 2012).

3.3. Seleção dos machos

A seleção dos reprodutores deve ser feita no mínimo de 60 dias antes do início da recolha de sêmen. Durante este período de tempo, é fundamental haver uma adaptação dos animais às condições de manejo (instalações, alimentar, social, etc.) e treino de monta (Carvalho, 2017).

Consoante o interesse do produtor e as características da exploração, os parâmetros de seleção de um macho dador (genética, morfologia física) variam (Maia, 2010). São escolhidas características desejáveis na seleção de reprodutores, que se baseiam na qualidade do sêmen (concentração, volume, morfologia dos spz); no líbido (elevado interesse sexual, na deteção de cios, na capacidade de monta e cópula); avaliação do estado geral (condição corporal, unhas e aprumos); avaliação andrológica e avaliação genética (Maia, 2010). Fatores estes que são indicados pelas associações de criadores (Carvalho, 2017).

3.4. Exame andrológico

O exame andrológico consiste numa série de testes para perceber se o macho, que estamos a avaliar, está apto para se reproduzir. Este teste é realizado para escolher animais para cobrição natural, bem como para reprodutores num programa de melhoramento animal. Os parâmetros avaliados rotineiramente incluem saúde geral, avaliação na escala de CC e exame físico à genitália externa, que inclui avaliação da circunferência escrotal, do tônus testicular e das lesões. Deve ser realizada uma avaliação do sémen e despiste de doenças. Posteriormente, os carneiros e os bodes são, classificados como "saudáveis/ satisfatórios", "temporariamente inválidos / questionáveis" ou "não saudáveis" (Ridler et al., 2012).

3.4.1. Circunferência escrotal

A circunferência escrotal é um parâmetro a ser observado na realização de um exame andrológico de carneiro. O aumento da circunferência escrotal tem sido associado ao aumento do volume ejaculado e da motilidade espermática em carneiros adultos. A circunferência escrotal mostra acentuada variação nas raças sazonais. Os valores apropriados para classificar um animal, com base na circunferência escrotal, são controversos, pois podem variar em função da idade, estação do ano, raça e variação individual. Devem ser considerados outros fatores relevantes, como o tônus testicular, nutrição, parasitas e outras doenças concomitantes, antecedentes reprodutivos prévios de maneira a contextualizar este parâmetro (Ridler et al., 2012).

3.4.2. Tônus testicular

Considera-se um animal apto para reprodução, quando os testículos são/estão firmes. O tônus varia de acordo com: a estação do ano, idade, doenças congénitas ou subseqüentes, a lesão ou infeção da genitália ou a doença sistémica. O *stress* térmico temporário resulta em testículos moles, degeneração testicular e uma diminuição transitória na qualidade do sémen. (Ridler et al., 2012)

3.4.3. Recolha de sémen

O sémen é recolhido com auxílio de uma vagina artificial (VA) em bodes e carneiros treinados, ou por meio de eletroejaculação.

O método mais tradicional é com VA. Esta deve ter um comprimento de 18 a 22 cm e diâmetro externo de 6 cm. A sua utilização requer preenchimento com água morna (simulando a genitália da fêmea); coloca-se um tubo de colheita de sémen na extremidade e lubrificante não espermicida na extremidade aberta. O sémen deve ser protegido da luz solar direta durante a recolha e com cuidado, a fim de evitar choque térmico, que pode inviabilizar o ejaculado.(Pugh & Baird, 2012)

Esta forma de recolha do sémen simula as condições de pressão e temperatura do aparelho reprodutor da fêmea e proporciona a obtenção de sémen de melhor qualidade que a recolha por eletroejaculação(Carvalho, 2017). Apesar de mais cómodo para o animal, envolve maior dificuldade pela necessidade de treino dos animais a ejacular na VA (Maia, 2010). Após a preparação do material para a recolha de sémen, os operadores realizam uma higienização do prepúcio do macho e da zona envolvente com uma toalha de papel. Aproxima-se o reprodutor da fêmea, devidamente contida e o operador posiciona-se lateralmente ao reprodutor (lado direito). Realizado o salto e exteriorizado o pénis, este deve ser cuidadosamente desviado com a mão, pegando no prepúcio e simultaneamente, introduzido na VA, para que ocorra a penetração. Esta deverá estar posicionada voltada para cima no momento da ejaculação, momento este em que o macho executa um “golpe de rins” – movimento pélvico brusco e pronunciado (Mylne et al., 1997; Evans & Maxwell, 1987) citados por (Carvalho, 2017)

A eletroejaculação atua no animal, gerando estimulações elétricas sucessivas, durante intervalos de alguns segundos nas glândulas acessórias, por via rectal (Carvalho, 2017). A eletroejaculação poderá ser utilizada quando é necessário recolher sémen de um macho que não está treinado para recolha através do método de VA ou quando se realizam exames andrológicos a um grande número de animais (Chagas & Silva, 1992) citados por (Carvalho, 2017). Esta técnica normalmente não produz resultados tão satisfatórios como pelo método do VA, normalmente os ejaculados vêm com urina no seu conteúdo o que pode inviabilizar a recolha (Carvalho, 2017). A recolha por eletroejaculação afeta o bem-estar animal evitando ser usada rotineiramente.

3.4.4. Análise Seminal

De forma a realizar uma avaliação de sémen, deve-se determinar vários parâmetros, volume, cor, pH, motilidade massal, % de motilidade individual progressiva (MIP), % de motilidade, concentração, número total de spz no ejaculado; a % de spz morfológicamente normais e, exceccionalmente, a avaliação do fluido seminal (citologia e cultura microbiana). É importante que, com a avaliação do sémen, seja feito também o registo da história clínica do animal e de algum achado no exame de estado geral (Carvalho, 2017). A análise seminal deve ser realizada por partes: deve-se começar de uma prespetiva mais abrangente e avançar para uma mais pormenorizada.

A avaliação da motilidade é expressa em duas etapas: a motilidade massal e a MIP. Quando se realiza uma análise seminal numa primeira fase por norma observa-se a motilidade massal, esta é estimada no sémen fresco e é o movimento resultante da interação entre o movimento individual dos spz e a concentração espermática (Carvalho, 2017). De forma a avaliar coloca-se uma gota de sémen recém- recolhido “cru”, sob uma objetiva baixa (100 x). Esta primeira análise tem como objetivo, observar a concentração e a motilidade dos spz. A determinação do valor da motilidade é realizada com base numa escala de 0 (ausência de movimentos) a 5 (máximo movimento de onda) (Pugh & Baird, 2012).

Para avaliação da MIP, deve ser colocada uma gota de solução salina aquecida numa lamela. O médico/técnico mergulha o canto de uma lamela na gota de sémen cru e mistura com a gota de solução salina aquecida. A mistura resultante deve permitir a observação do movimento dos spz individualizado. O examinador deve estimar, visualmente, o número de spz que se encontram progressivamente móveis e deve, também, registar o número de células redondas presentes em cada imagem. Se forem vistas mais de duas células arredondadas em cada campo de média potência, deve ser feito um esfregaço do sémen para avaliação citológica (por exemplo, com a mancha de *Wright*). Os carneiros devem ter mais de 30% de spz progressivos para uma classificação “satisfatória” e mais de 70% para uma classificação “exceccional”. A qualidade do sémen é, geralmente menor, fora da época de reprodução. (Pugh & Baird, 2012)

Tanto a qualidade, como a quantidade de sémen podem variar com a idade, a estação, a temperatura, a raça e até mesmo entre indivíduos dentro de animais da mesma raça. O volume tem algum valor na avaliação sémen coletado quando se usa uma VA, mas é limitado quando são usados os eletroejaculadores (Pugh & Baird, 2012). Os valores normais para a avaliação do sémen no tubo de recolha são os seguintes: Volume do sémen:

1 mL (com variação de 0,5 a 1,5 mL) Motilidade massal: 80% (com variação de 70% a 90%)
Concentração espermática: 4 bilhões (com um intervalo de 2 a 5 bilhões) / mL.(Pugh & Baird, 2012)

A cor do sémen depende do número de spz por mililitro e pode variar de um soro leitoso a cremoso. O ideal é uma coloração cremosa, que será indicativo de uma maior concentração de spz.(Pugh & Baird, 2012)

Embora a concentração não seja, rotineiramente, avaliada em condições de campo, é aconselhável incluir essa medida na avaliação. A concentração pode ser facilmente avaliada, usando um hemocítmetro. (Pugh & Baird, 2012)

4. Técnicas de Reprodução Assistida (TRA)

4.1. Inseminação artificial

A IA é a tecnologia reprodutiva com maior impacto na criação de animais em todo o mundo. Em espécies como a bovina e suína, há uma longa história de sucesso da indústria de IA. Em ovinos, a IA contribuiu em muito para o melhoramento genético. No entanto, esta técnica, atualmente, é limitada, em comparação a outras espécies domésticas, devido a resultados de fertilidade irregulares e baixos.(Santolaria, Palacin, & Yaniz, 2011)

A aplicação de TRA possibilitou o aumento do progresso genético. Estas permitiram que os animais de alto mérito genético produzissem mais descendentes do que seria possível com o melhoramento natural. A IA é a TRA mais utilizada e a que mais contribuiu para o melhoramento genético a nível mundial. A técnica de IA é um método relativamente simples e de baixo custo para a disseminação de genes valiosos e, quando associada a sincronização de cio, é uma tecnologias-chave para a gestão de sistemas de produção, permitindo a concentração da época de reprodução e do parto e a produção de carne e leite durante épocas específicas do ano, para marketing estratégico e outras finalidades. (Baldassarre & Karatzas, 2004)

O uso de sémen crio preservado nas TRA tornaram-se uma ferramenta indispensável para o melhoramento genético, através do manejo reprodutivo da indústria dos ovinos (Osuagwu & Palomo, 2017). Este facilita a troca internacional de material genético, permite o uso de sémen tanto nas estações reprodutivas quanto não reprodutivas e estende a vida reprodutiva efetiva de um macho valioso, para além de sua própria vida (Baldassarre & Karatzas, 2004).

A superovulação e a transferência de embriões são frequentemente referidas como as TRA, que são, para “a fêmea, o que a IA é para o macho” é um método que possibilita produzir mais descendentes de uma fêmea, geneticamente valiosa, do que seria viável através da reprodução natural (Baldassarre e Karatzas, 2004)

4.1.1.Técnica de inseminação vaginal

A técnica de inseminação vaginal consiste em limpar a vulva com algodão seco ou toalhas de papel; introduzir uma pipeta de inseminação na porção cranial da vagina e deslizá-la ao longo do teto dorsal da vagina, a fim de evitar a entrada do orifício uretral. Um espécúlo proporciona uma melhor visualização no posicionamento da pipeta. Uma Inseminação com 4×10^9 e 3×10^9 de spz progressivamente móveis permite uma capacidade máxima de fertilização com sémen fresco, estes valores são respetivos a ovelhas e cabras. A taxa de concepção com este método varia de 15% a 30% e os resultados podem ser melhorados com o auxílio de técnicos experientes, usando programas de sincronização de cio bem concebidos e uma boa capacidade de deteção de estro, em animais saudáveis e bem nutridos.(Pugh & Baird, 2012)

4.1.2.Técnica de inseminação cervical

Quando comparado com a inseminação vaginal, a inseminação cervical é mais demorada, requer mais técnica, mas tem taxas de concepção superiores. Neste método, os membros pélvicos da ovelha são elevados e mantidos sobre uma mesa (ou algo semelhante que permita o apoio). O técnico deve ter o cuidado de introduzir o espécúlo vaginal lubrificado de aproximadamente 12 cm através da vulva. A limpeza deste instrumento e da vagina são muito importantes. Após a visualização do colo do útero (com o espécúlo e iluminação adequada), o técnico introduz a pipeta pelo espécúlo, de modo menos traumático possível no entanto o mais fundo possível. A anatomia do cervix dos ovinos, dificulta a passagem até à porção mais cranial deste e, como tal, a deposição ocorre normalmente no cervix mais caudal. São necessários, aproximadamente, 1×10^9 spz de sémen refrigerado para garantir boas taxas de parto em ovelhas e cabras. A taxa de concepção com este método varia de 35% a 50% e é favorecida com a minimização de trauma iatrogénico (Pugh & Baird, 2012)

4.1.3. Inseminação com sémen refrigerado

O sémen de carneiro pode ser recolhido e refrigerado para IA no mesmo dia ou no dia seguinte. Antes de ser utilizado, o sémen é coletado e deve ser mantido abaixo de 35 ° C. Quando o armazenamento atinge temperaturas acima de 37 ° C, ocorre um aumento da taxa metabólica espermática e isso limita a longevidade dos spz. O sémen diluído pode ser inserido por pipeta em palhetas de 0,5 ml e arrefecido gradualmente, por 1 a 2 horas, a partir de 30 ° C, até à temperatura de armazenamento de 5 ° C. Deve ser usado dentro de 6 a 8 horas após a coleta e diluição, para obtenção de uma fertilidade máxima (Pugh & Baird, 2012).

5. Fatores que afetam a fertilidade à IA em ovinos

5.1. Fatores associados à fêmea

5.1.1. Raça

A influência da raça no sucesso da IA está bem reportada (Kukovics, Gyoker, Nemeth, & Gergatz, 2011). As diferenças no tempo médio de ovulação e nas taxas de ovulação em diferentes raças em locais diferentes podem explicar a variação na fertilidade (Santolaria et al., 2011). Em estudos Irlandeses realizados por (Donovan et al., 2001 e 2004) citados por (Santolaria et al., 2011), verificou se diferenças entre a taxa de prenhez de ovelhas *Suffolk* (12%) e na raça *Finnish landrace* (65%).

Vários autores sugeriram que esta variação esta relacionada provavelmente com diferenças na anatomia cervical (Eppleston, et al., 1994; Kaabi et al., 2006; Santolaria et al., 2011) .

Eppleston, et al., (1994) verificaram que estas diferenças podem ser devido a diferenças nas características morfométricas do cervix e nesse sentido, Kaabi et al. (2006), realizaram um estudo morfométrico em quatro raças ovinas (Assaf, Churra, Castellana e Merino), mostrando diferenças importantes no comprimento, largura, número de dobras e distâncias entre pregas, o que origina variações na profundidade de penetração do cateter na região cervix, durante AI.

As raças que produziram menor fertilidade após a IA resultaram em maior complexidade cervical e atingiram menor grau de penetração cervical do cateter, durante a IA cervical (Kaabi et al., 2006).

5.1.2. Exploração

O efeito significativo da exploração tem sido descrito em vários estudos (Anel et al., 2005; Palacín et al., 2012; Santolaria et al., 2011)

A diferença nas práticas de manejo em diferentes explorações pode ter impacto na fertilidade após a IA, o planeamento reprodutivo (intervalos entre partos, estação do ano, idade da primeira cobrição, técnica de IA, etc.) e manipulação de animais (alimentação, saúde, preparação de lotes de IA) demonstraram ser fatores importantes nos resultados de fertilidade (Anel et al., 2005). Num estudo de Palacín et al., (2012) a localização geográfica entre explorações foi um fator de variação sendo que foram observadas diferenças nas taxas de fertilidade entre as várias localizações estudadas. A distância média do tempo dessas regiões ao centro de recolha de sémen foi idêntica. As taxas superiores foram encontradas nas regiões Norte (60%), e os resultados mais baixos (38,5-48,3%) foram obtidos nas regiões a Sul.

5.1.3. Idade da ovelha

Não é consensual a idade mais produtiva em ovinos. Alguns autores consideram os animais mais jovens mais férteis (Shackell et al. 1990; Anel et al. 2005; Fukui et al. (2010).

Num estudo mais recente Anel et al. (2005) descreveu que, após 1,5 anos de idade, a taxa de parição diminuiu em 1,74% ano, na IA cervical num estudo efetuado na raça de leite espanhola Churra, Fukui et al. (2010) observou que, tanto a taxa de prenhez, quanto a de parto diminuiu, significativamente, com o aumento da idade das fêmeas. O efeito prejudicial do aumento da idade de fertilidade pode ser explicado pelo fato de que ovelhas mais velhas têm riscos aumentados de distúrbios reprodutivos e taxas de ovulação reduzidas e com menos oócitos ovulados de qualidade, em comparação com animais mais jovens (Selaive-Villarroel and Kennedy, 1983) citados por (Santolaria et al., 2011)

Qual é a idade ideal para a IA cervical? (Santolaria et al., 2011) citando vários autores relataram uma diminuição significativa na fertilidade de ovelhas inseminadas com mais de 3,5 anos de idade. (Santolaria et al., 2011) referiu que a fertilidade máxima foi obtida por volta dos 2 anos de idade. Anel et al. (2005) registou as melhores taxas de

fertilidade em ovelhas com idade entre 1,5 e 4,5 anos. Destes estudos, pôde-se concluir que, os grupos de inseminação devem ser constituídos por ovelhas de 2 a 5 anos, enquanto ovelhas mais jovens e mais velhas devem realizar um acasalamento natural (Santolaria et al., 2011)

5.1.4. Local de deposição do sémen

Em ovinos, o cervix é a principal barreira fisiológica para a ascensão dos spz após a monta ou AI. Isso é, particularmente, relevante na técnica de inseminação cervical, pois, apenas uma proporção relativamente pequena de células armazenadas passa o canal cervical e migra, através do útero da ovelha, até aos ovidutos (Salamon & Maxwell, 2000)

É importante estabelecer um reservatório de spz adequado no istmo caudal e na junção útero-tubárica, após a IA, pois os spz podem ascender até o local de fertilização a partir deste reservatório de uma forma mais fácil (Santolaria et al., 2011).

Na ovelha, os anéis em forma de funil do cervix, que são em média cinco, não estão alinhados concentricamente e as suas aberturas são restritas, na maioria dos casos, a menos de 3 mm (King et al, 2004). Num estudo Kaabi et al., (2006) verificaram uma correlação positiva entre a profundidade da IA cervical e a fertilidade.

A deposição cervical do sémen também apresenta aspetos negativos. Kaabi et al., (2006) relataram, que devem ser tomados cuidados especiais para evitar trauma cervical com a passagem do cateter durante a IA, já que tem sido associado a reduções na taxa de prenhez. Estes autores sugerem que devem ser adotados novos métodos de deposição de sémen, de forma mais profunda no útero e de forma a lesar o menos possível o cervix. Estudos baseados no uso de pipetas modificadas, ou hormonas, como a oxitocina com o objetivo de dilatar o canal cervical, mostraram que a penetração cervical pode ser melhorada. No entanto, os resultados de fertilidade têm sido muito variáveis. (Santolaria et al., 2011)

A bibliografia mostra uma grande diferença nas taxas de fertilidade entre métodos: método vaginal (31,25%), por método cervical (18-75%) cevico-uterino (69,6- 76,4%) Laparoscopia;(44.89-69%). De referir que, esses resultados são afetados, de acordo com o sémen utilizado (fresco, refrigerado ou congelado (Kukovics et al., 2011).

5.1.5. Condição corporal e peso corporal

A escala de condição corporal mostrou-se muito útil como ferramenta de gestão, para avaliação subjetiva do estado nutricional de rebanhos de ovinos.

A influência positiva da CC na fertilidade está bem reportada (Santolaria et al., 2011) observaram que é essencial as ovelhas serem adequadamente nutridas e mantidas em boas condições corporais, de forma a melhorar os resultados da IA. Alguns autores verificaram que, ovelhas sujeitas a uma correta ingestão de nutrientes, entram mais depressa em cio e continuam a responder com um aumento na taxa de ovulação (Santolaria et al., 2011)

No entanto não existe um valor de CC que seja consensual. (Contreras-Solis, et al., 2009; Husein & Ababneh, 2008) citados por (Santolaria et al., 2011) sugeriram que se deve tentar obter uma condição corporal de 2,5 a 3,0 na IA. Num estudo realizado em ovelhas Rasa Aragonesa (Bru et al., 1995), descreveram que as menores taxas de prenhez (32,7%) foram obtidas em ovinos com uma ECC <2, sendo que os valores médios entre 3 e 2 apresentaram (48,3%) e com os maiores valores (58,8%) quando o ECC foi > 3.

Independentemente do peso corporal, estima-se que as ovelhas nulíparas, com menos de 3 anos de idade e com uma ECC superior a 3,0 tenham maior fertilidade, que ovelhas noutras condições (Santolaria et al., 2011)

5.1.6. Sémen fresco, refrigerado e congelado

Por norma, afirma-se que a fertilidade do sémen diminui com a temperatura de arrefecimento. Consoante o sémen utilizado na IA estão descritos na literatura valores na taxa de fertilidade que variam de: sémen fresco recém-diluído (70-82.2%), sémen fresco armazenado (56.7-76%), sémen refrigerado (37.5-73.33%), sémen congelado (29-71.6%). (Kukovics et al., 2011)

5.1.7. Época de inseminação

Estão descritas variações sazonais como um fator limitante na reprodução de ovinos. Em condições naturais, a sazonalidade, é mediada pelo fotoperíodo. Esta modifica o equilíbrio hormonal e causa variações reprodutivas sazonais em ovelhas (Santolaria et al., 2011), dando oportunidade de atividade reprodutiva durante os dias longos. As mudanças sazonais, na atividade reprodutiva, são claramente definidas em raças de ovinos de altas

latitudes ($> 40^\circ$) (Santolaria et al., 2011), onde as diferenças, na duração da luz do dia, entre dias curtos e dias longos, são mais notados.

De acordo com (Anel et al., 2005), observaram um efeito sazonal na fertilidade da IA em ovelhas de raça Churra, efeito que foi mais importante na IA cervical do que laparoscópica. Na IA cervical, o sêmen é depositado na porção externa do colo do útero e o transporte de spz é afetado pela qualidade do muco cervical. Estes autores sugerem que o fotoperíodo poderia alterar a produção de progestágenos e, portanto, as características do muco cervical, tornando-o mais escasso e mais viscoso, por conseguinte o transporte de spz no cérvix pode ser interferido. (Santolaria et al., 2011)

5.2. Fatores associados ao macho

Segundo vários autores, é sugestível que o carneiro pode influenciar, de maneira muito significativa, os resultados da fertilidade após a IA cervical. (Santolaria et al., 2011)

(Santolaria et al., 2011) relataram que a variação na fertilidade dos ejaculados de carneiro existe, independentemente da qualidade do sêmen e que foram relatadas variações na fertilidade de carneiros, após inseminações cervicais com sêmen fresco (Anel et al., 2005)

Num estudo epidemiológico de larga escala, Anel et al. (2005) observaram que o macho influenciou, significativamente, a fertilidade. Salamon e Maxwell (1995) citados por (Manafi, 2011) propuseram que, as diferenças na fertilidade dos machos poderiam ser tanto genéticas, quanto ambientais, e que as diferenças nos ejaculados são, provavelmente, devidas à nutrição, manejo e frequência prévia da ejaculação.

Considerando que as diferenças na fertilidade foram demonstradas entre machos férteis em diferentes espécies, as causas dessas diferenças permanecem por descobrir. (Santolaria et al., 2011)

6. Sincronização de cio

As espécies de pequenos ruminantes são animais de ciclos reprodutivos de dias curtos, o que é um fator crucial que afeta a oferta de borregos ao longo do ano. Um manejo adequado da reprodução permite que as ovelhas se reproduzam na primavera de forma a aumentar o fornecimento do mercado durante o ano todo. O controle farmacêutico da

reprodução é possível, geralmente através do tratamento hormonal utilizando análogos relacionados com o ciclo éstrico natural utilizando a progesterona as prostaglandinas e/ou melatonina.(Abecia, Forcada, & González-Bulnes, 2011) As possibilidades de controlar a reprodução em pequenos ruminantes usando substâncias farmacológicas são bem descritas e contrastadas, e são ferramentas úteis que ajudam a aumentar o lucro das explorações. Os vários métodos que podem ser usados estão resumidos na Tabela 3 (Abecia et al., 2011).

6.1. Dispositivos intravaginais

Os dispositivos intravaginais com progesterona ou progestagénios são as ferramentas mais usadas para a sincronização do estro em pequenos ruminantes. Desde o início dos anos 60, os aparelhos inseridos intravaginalmente, impregnados com progestagénios, têm sido aplicados para sincronizar o ciclo éstrico de ovelhas e provaram ser igualmente eficazes na sincronização do cio em cabras. As formas mais utilizadas, comercialmente, para essa administração, são esponjas de poliuretano, impregnadas com progestágeno e o *Controlled internal drug release* (CIDR) (um elastômero de silicone inerte), geralmente impregnado com progesterona natural.(Abecia et al., 2011) As formas comerciais comumente usadas de progestagénios são: o acetato de fluorogestona (FGA) (na forma 20-40 mg / esponja) e acetato de medroxiprogesterona (MPA) (a 60 mg / esponja) (Abecia et al., 2011).

6.2. Progesterona e análogos

No momento da remoção da progesterona ou progestágeno, os animais são tratados com *equine chorionic gonadotrophin* (eCG), uma hormona glicoproteica placentária preparada a partir do soro de éguas grávidas. A eCG tem atividades simultâneas e semelhantes à FSH e LH. Para que o tratamento com progestágeno seja eficaz, é necessário ter gonadotrofina suficiente disponível para iniciar os eventos pré-ovulatórios, aumentando as gonadotrofinas endógenas com FSH exógeno fornecido pela administração de eCG.

6.3. Prostaglandina e análogos

A prostaglandina e os seus análogos são utilizados para a eliminação do CL de forma a induzir uma fase folicular com ovulação. O fator luteolítico nos ruminantes é a PGF_{2α}, portanto, a sua administração exógena ou de um dos seus análogos pode ser usada

para induzir uma luteólise controlada. Os análogos universais da prostaglandina usados para fins veterinários são o cloprostenol e o luprostiol.(Abecia et al., 2011)

6.4. Implantes auriculares de melatonina

Os implantes de melatonina, para aplicação subcutânea, estão comercialmente disponíveis desde a década de 1990, em vários países europeus, mas não estão disponíveis na América do Norte.(Abecia et al., 2011)

Estes têm sido amplamente utilizados para promover a época de reprodução de ovelhas e cabras na fase de anestro, induzindo altas concentrações plasmáticas de melatonina, por 24 horas, todos os dias, sem suprimir a secreção endógena da hormona pineal, durante a noite. Desta forma, os implantes causam uma resposta semelhante a um dia curto, prolongando a duração do sinal de melatonina. Os implantes podem conter 18 mg de melatonina e são projetados para manter altas concentrações plasmáticas, pelo menos 60 dias, embora a maioria continue libertando a hormona por mais de 100 dias. O implante liberta e mantém concentrações plasmáticas de melatonina diurna acima de 100 pg / mL, tanto em ovelhas como em cabras.(Abecia et al., 2011)

Tabela 2 Resumo das características dos principais tratamentos farmacológicos disponíveis para controlar a reprodução em pequenos ruminantes (Adaptado de Abecia et al., 2011)

Hormona	Forma farmacêutica	Via de administração	Dose	Época do ano	Tempo para introdução dos machos com as fêmeas	Rácio ótimo de Macho: Fêmea	Comentários
Progesterona	CIDR	Intravaginal x 12-14d	20-40 mg FGA	Todo o ano	36-48 h após a remoção dos aparelhos	1:5	Pode ser usada em combinação com eCG
Progestagênio	Esponja	Intravaginal x 12-14d	20-40 mg FGA, 60 mg MPA	Todo o ano	36-48 h após a remoção das esponjas	1:5	Pode ser usada em combinação com eCG
Progestagênio	Acetato de melangestrol	Na alimentação x 8-14 dias	2.5 mg MGA dividido em 2 períodos de alimentação	Todo o ano	26-48h após a remoção da alimentação	1:5	eCG injetada 8h depois da última alimentação
eCG	Solução injetável	Intramuscular(IM)	250-500 UI(unidades internacionais)	Todo o ano			Deve ser utilizada depois da administração de progesterona ou progestagênios
Prostaglandina ou análogos sintéticos	Solução injetável	Intramuscular/sub cutâneo	125ug cloprostenol, 7.5 mg luprostitol	Período reprodutivo	48h depois da administração	1:10	Duas injeções com um intervalo de 10 dias
Melatonina	Implante	Subcutâneo	Macho: 3x18 mg; Fêmea: 18 mg	Fora de época de reprodução	40d após a administração nas ovelhas	1:20	Os machos devem estar separados das fêmeas 45 d antes da introdução

7. Ecografia reprodutiva em pequenos ruminantes

A ecografia é prática recorrente em rebanhos comerciais nos últimos 30 anos. Tem extrema importância na realização de diagnóstico de gestação, na detecção do número de fetos e na identificação do estágio da gestação, o que tem permitido uma maior precisão na alimentação e no manejo, durante o último período da gestação (Scott, 2012)

Os transdutores de ecografia em tempo real, de matriz linear, podem ser usados transretalmente, para diagnosticar a gravidez, desde os 18 dias até aos 60 dias. É recomendado um transdutor de 5 ou 7,5 MHz para ecografia transretal. Após 60 dias de gestação, o útero toma uma posição mais ventral no abdómen e pode ser difícil visualizar transretalmente. A ecografia abdominal é utilizada após os 30 dias de gestação e usa-se um transdutor linear 3,5MHz ou de setor de 5 MHz.(Pugh & Baird, 2012)

A ecografia abdominal requer tricotomia local e posiciona-se na região inguinal, preferencialmente no flanco direito. O clínico direciona o feixe do transdutor em direção à pelvis e examina o abdómen, lentamente, movendo/inclinando o transdutor cranialmente. A identificação da bexiga (tipicamente de aparência triangular) fornece um excelente ponto de referência, uma vez que o útero, normalmente, está localizado na região dorsal ou cranial da bexiga.(Pugh & Baird, 2012)

A gravidez pode ser diagnosticada no momento, com base na descoberta de um feto, placentoma, ou, de forma menos fidedigna, quando se visualizam numerosas secções luminais uterinas preenchidas com líquido. Gravidezes gemelares, geralmente, podem ser determinadas entre 45 e 90 dias de gestação.(Pugh & Baird, 2012)

A realização de ecografia transrectal em ovelhas entre os 24 e 34 dias de gestação permite uma grande fiabilidade (Pugh & Baird, 2012). Num estudo realizado por Jones et al., (2016) estes autores obtiveram uma taxa de eficácia, na detecção de gestação com ecografia transrectal, de 77% a 100%, se realizada nos dias 19 a 29 de gestação. Com ecografia abdominal, obtiveram-se resultados semelhantes em ovinos e caprinos, quando aplicado entre os dias 40 a 80 e 39 a 51 de gestação, respetivamente.

Tabela 3 Achados ultrassonográfico nas várias fases da gravidez (em dias) (adaptado de (Pugh & Baird, 2012)

Dias	Achados ultrassonográficos de gravidez
17 a 25	Ecografia transretal; embrião visível após 2 Dias
26 a 35	Ecografia transabdominal; amnion hipoecóico e feto hiperecoico
30 a 75	Ecografia transabdominal; visualização de estruturas em forma de “donut” a placentomas em forma de C
45 a 90	Melhor altura para deteção de gémeos;
90 até ao parto	A determinação do número de fetos é menos eficaz perto do parto

8. Objetivos do estudo

O objetivo do estudo foi aferir quais os fatores com maior impacto no sucesso da IA, com sémen refrigerado, em ovinos das raças MP e MB.

As variáveis de resposta foram a taxa de diagnóstico de gestação positivo (Dg+) aos 45 dias, a taxa de fertilidade e a taxa de prolificidade. Para além da raça foram considerados o efeito da exploração, idade da ovelha do local de deposição do sémen e da condição corporal no sucesso à IA.

1. Estudo

1.1. Materiais e métodos

Este estudo decorreu ao abrigo de um protocolo entre a Direção Regional de Agricultura do Alentejo e a ANCORME. A escolha de animais para os grupos de inseminação teve, por base, a avaliação genética realizada em 2016. Os ovinos utilizados neste estudo estão inscritos nos livros genealógicos das respetivas raças e estão avaliados geneticamente para características de interesse zootécnico, nomeadamente através dos parâmetros: VG-PROL, rPROL, VG-PDdi, rPDdi, VG-PDma, rPDma. No total, foram analisados os resultados obtidos de 419 inseminações, realizadas em 5 explorações, no Sul de Portugal, no período de 28 de março a 30 de Outubro de 2017.

1.1.1. Animais

A IA foi realizada em ovelhas de raça e MP e MB primíparas e múltíparas, com idades compreendidas entre os 1 a 11 anos. Em todas as fêmeas, foi avaliada a CC, numa escala de (1=emaciadas a 5=obesas; Russel et al., 1969). Todos os animais selecionados foram identificados com uma coleira, para se diferenciarem do restante efetivo.

1.1.2. Raça

No nosso estudo não foram observadas diferenças significativas entre raças pelo que o efeito da raça foi retirado do modelo estatístico e foi considerada a raça merina como um todo (Pretas+ Brancas).

1.1.3. Exploração

O estudo envolveu animais provenientes de 5 explorações situadas na região do Alentejo. As explorações onde o estudo decorreu foram selecionadas pela ANCORME e os animais inseminados escolhidos tiveram por base parâmetros genéticos que a associação predefiniu.

1.1.4. Idade das ovelhas

Foram inseminadas ovelhas com idades compreendidas entre 1.5 e 11 anos e com uma média de idades de 4.75 anos.

De forma a simplificar e agrupar os nossos resultados, a nossa população foi categorizada em três grupos de idades:

- (A) ovelhas até 3 anos
- (B) ovelhas dos 3 aos 6 anos
- (C) e ovelhas com > 6 anos

1.1.5. Local de deposição do sémen

Em relação ao local de deposição de sémen, a técnica utilizada foi a inseminação cervical com o objetivo de depositar o sémen o mais profundo possível no cérvix. A deposição foi considerada cervical, quando o pistolet atravessou a 1ª prega cervical e quando não ocorreu refluxo para a vagina. Considerou-se vaginal quando, após a deposição do sémen, era observado refluxo para a vagina.

1.1.6. Condição corporal (CC)

A CC corporal da ovelha à IA não foi registada na totalidade dos animais inseminados (n=358), uma vez que não se registaram os valores de 61 animais pertencentes a uma das explorações. Por este motivo, optou-se por retirar este fator do modelo de análise estatística.

A CC das ovelhas avaliadas foram subdivididas em três categorias: CC (1) correspondente a um valor de 2-2.5 na escala de CC de Russel et al (1969); CC (2) - 3;3,5 (3) -> 4 na escala de avaliação de CC. Em cada grupo foram inseminadas ovelhas das categorias de CC 1- (n=41), grupo 2 (n=158), grupo 3 (n=159)

1.2. Programa de IA

1.2.1. Preparação das fêmeas

Colocaram-se esponjas vaginais impregnadas com 20mg de FGA (*Chronogest; MSD Animal Health, Lda. Porto Salvo, Portugal*). As esponjas foram mantidas por 12-14 dias, e administrou-se 450 UI de eCG por via IM (*INTERGONAN; MSD Animal Health Lda, Porto Salvo, Portugal*), no momento da remoção das esponjas.

1.2.2. Preparação dos machos

Foram utilizados 11 machos, 4 MP e 7 MB com qualidades seminais testadas, que pertencem ao CRAHA, (Vila Nova de São Bento, Portugal) e que eram alimentados com uma dieta *standard*, quando utilizados para IA.

O sémen foi colhido individualmente, usando vaginas artificiais estéreis e tubos de plástico. Os ejaculados foram analisados por técnicos do centro, no mesmo dia do programa de inseminação. Foram estabelecidas características seminais mínimas, para o processamento dos ejaculados: volume ≥ 0.4 ml, motilidade massal ≥ 4 (numa escala de 0-5, análise manual, ampliação de 100x), e motilidade individual $\geq 65\%$). Os ejaculados foram diluídos com Ovixcell® e armazenados a 15°C até ao momento da IA.

1.2.3. IA, *timings* e técnica

As inseminações foram realizadas por diferentes técnicos qualificados, pertencentes à equipa do CRAHA e da UE.

As ovelhas foram inseminadas com 400×10^6 de spz, 52-55 horas após a remoção das esponjas, usando um espelho com uma fonte de luz e um cateter de IA ovino-caprino (IMV Technologies, L'Aigle, France). O sémen foi depositado no trato genital, o mais profundo possível, com o cuidado de não lesar o epitélio cervical e depositar o mais perto possível do útero.

1.2.4. Diagnóstico de gestação

Para confirmar o sucesso da técnica, o acompanhamento técnico englobava o diagnóstico de gestação. Este foi realizado 45 dias após a inseminação e consistiu na observação ecográfica via transabdominal e transretal de achados consistentes com prenhez (ex.: observação de placentomas), de forma a diagnosticar a gestação.

Este procedimento é importante, pois há a introdução de machos no rebanho, cerca de 15 dias após inseminação e, como tal, é importante conseguir diferenciar quais as fêmeas gestantes da inseminação e quais as fêmeas gestantes do macho.

1.2.5. Registos ao parto

Depois da inseminação, as ovelhas foram isoladas dos carneiros. Os partos tiveram lugar entre os 139 e 158 dias.

1.3. Análise estatística

Para análise estatística utilizou-se o *software* SAS (Statistical Analysis System, North Carolina State University, 2013). O modelo estatístico utilizado foi a regressão logística com ODDS-ratio associados e LS means (médias ajustadas).

2. Resultados

2.1. Raça

Realizou-se uma análise uni-variável e a raça não apresentou diferenças significativas.

Uma vez que no nosso estudo não foram observadas diferenças significativas entre raças, para as variáveis de resposta consideradas, o efeito da raça foi retirado do modelo estatístico e foi considerada a raça merina como um todo (Pretas + Brancas). Na tabela 5 podemos verificar o nº de ovelhas inseminadas, a (%) de ovelhas gestantes e a (%) de ovelhas paridas em resultado da IA.

Tabela 4 Nº de fêmeas inseminadas, nº de fêmeas Dg+ e nº de fêmeas paridas por raça.

Raça	Nº de fêmeas inseminadas	Diagnóstico de gestação positivo (n)	Fertilidade (n)	Prolificidade
MP	217	43%(n=94)	32% (n=70)	102/70=1.5
MB	202	35% (n=71)	19% (n=38)	52/38=1.4

2.2. Exploração

Foram inseminadas ovelhas de 5 explorações. Na exploração (1) foram inseminadas 61 ovelhas (n=61), na exploração 2, 107 ovelhas (n=107), na exploração 3, 61 ovelhas (n=61), na exploração 4, 100 ovelhas (n=100) e na exploração 5, 90 ovelhas (n=90).

Na tabela 6 podemos observar a % de ovelhas gestantes e a % de ovelhas paridas nas diferentes explorações incluídas no estudo. A exploração (3) foi a que apresentou a maior taxa de ovelhas com Dg+ (63.9%) e de fertilidade (39.3%) comparativamente á exploração 1 (24.6%) e 5 (12.2%) onde se observaram os resultados mais baixos.

Tabela 5 Tabela de frequências relativa às várias explorações avaliadas para as variáveis Dg+ e fertilidade.

Fator		Diagnóstico de gestação positivo %	Fertilidade%
Exploração	1	24.6 (n=15)	13.1 (n=8)
	2	28.0 (n=30)	26.2 (n=28)
	3	63.9 (n=39)	39.3 (n=24)
	4	51.0 (n=51)	37.0 (n=37)
	5	33.0 (n=30)	12.2 (n=11)

2.2.1. Análise de regressão logística em relação às variáveis de resposta.

Na tabela 7 podemos verificar os P-values associados ao fator exploração. Segundo os dados analisados, as variáveis Dg+ e fertilidade demonstraram diferenças estatisticamente significativas entre as explorações ($p < 0.05$), no entanto a prolificidade não ($p > 0.05$).

Tabela 6 Valores de P-value para as variáveis de resposta, Dg+ e Fertilidade e prolificidade.

Exploração	P-value
Relação ao Diagnóstico de gestação positivo	<0.001
Relação à Fertilidade	0.0001
Prolificidade	0.367

2.2.2. Diagnóstico de gestação

Os valores de ODDS-Ratio para a variável dependente Dg+ entre as várias explorações estudadas, está descrito na tabela 8. Podemos verificar que a % de ovelhas com Dg+ por exploração apresentou diferentes probabilidades de ocorrência entre elas ($p < 0.05$). Os resultados observados na exploração 3 demonstraram uma maior probabilidade de ocorrência de animais gestantes na razão de 1.648 ($p < 0.01$), 1.624 ($p < 0.01$) e 1.255 ($p < 0.01$) em relação às explorações 1, 2, e 5 respetivamente. Os resultados da exploração 4 demonstraram uma maior probabilidade de ocorrência de animais gestantes na razão de 1.082 ($p < 0.01$), 1.058 ($p < 0.01$) em relação às explorações 1, 2 respetivamente.

Tabela 7 Tabela com diferenças de ODDS-Ratio por exploração relativas à variável fixa Dg+

OR	Explorações	2	3	4	5
-1.349	1	-0.024	-1.648**	-1.082**	-0.393
-1.325	2		-1.624**	-1.058**	-0.369
0.299	3			0.565	1.255**
-0.267	4				0.689*
-0.956	5				

** $P < 0.01$; * $P < 0.05$; + $P < 0.1$

2.2.3. Fertilidade

Os valores de ODDS-Ratio entre as várias explorações estudadas, para a variável dependente fertilidade estão descritos na tabela 9. Podemos verificar que a taxa de fertilidade variou entre explorações. A exploração 3 demonstrou uma maior probabilidade de ocorrência de parto, na razão de 1.400 ($p < 0.01$), 1.471 ($p < 0.01$) em relação às explorações 1 e 5 respetivamente. Os resultados da exploração 4 demonstraram uma maior probabilidade de ocorrência de partos entre esta na razão de 1.392 ($p < 0.01$) em relação à exploração 1.

Tabela 8 Tabela com diferenças de ODDS-Ratio por exploração relativas à variável fixa fertilidade

OR		2	3	4	5
-2.597	1	-0.700	-1.400**	-1.392**	0.070
-1.897	2		-0.700*	-0.692**	0.770*
-1.196	3			0.008	1.471**
-1.204	4				1.462*
-2.667	5				

** P <0.01; * P <0.05; +P <0.1

2.2.4. Prolificidade

A prolificidade obtida resultante da IA não variou significativamente entre explorações ($p > 0,05$; tabela 10).

Tabela 9 Valores de médias ponderadas e erro padrão por exploração.

Exploração	Médias ajustadas +- Erro padrão (EP)
1	1.12 +- 0.19
2	1.33+- 0.15
3	1.43 +-0.15
4	1.34+-0.12
5	1.15+-0.12

2.3. Idade

Em relação ao fator idade, foram inseminadas por grupos: grupo A, 104 ovelhas (n=104), no grupo B, 205 ovelhas (n=205) e no grupo C, 110 ovelhas (n=110).

Na tabela 11, podemos observar a % de ovelhas gestantes e paridas pelos vários grupos. Verificou-se que a taxa de fertilidade diminuiu em relação à taxa de Dg+ em todos eles.

Tabela 10 Tabela de frequências (%) em relação à idade dos animais.

		Diagnóstico de gestação positivo %	Fertilidade %
Idade	A	43.3 (n=45)	31.7(n=33)
	B	42.9(n=88)	28.3(n=58)
	C	29.1(n=32)	15.5(n=17)

2.3.1. Análise de regressão logística em relação às variáveis de resposta

Na tabela 12 podemos verificar os P-values das variáveis de resposta associados ao fator idade. O que podemos dizer desta tabela é que a idade não afetou o número de ovelhas paridas (fertilidade; $p > 0.05$) mas pode-se observar um efeito da idade no número de ovelhas gestantes ($p < 0.1$). Verificou-se ainda um efeito significativo ($p < 0,05$) no número de borregos nascidos por ovelha parida (prolificidade) por classe etária.

Tabela 11 Análise de regressão logística em relação às variáveis de resposta, Dg+ e fertilidade e prolificidade.

Idade	P-values
Diagnóstico de Gestação +	0.090
Fertilidade	0.117
Prolificidade	0.036

2.3.2. Diagnóstico de gestação

Os valores de ODDS-Ratio para a variável dependente Dg+ entre os vários grupos de idade estudados, está descrito na tabela 13. Podemos verificar que a % de ovelhas com gestantes apresentou diferentes probabilidades de ocorrência entre grupos etários. As ovelhas do grupo C têm uma probabilidade 0.538 vezes menor de ficar gestantes que as do grupo A ($p < 0.1$) e 0.589 ($p < 0.05$) de ficar gestantes que as ovelhas do grupo B.

Tabela 12 Diferença entre ODDS-Ratio, Idade vs Dg+

OR	Idade	B	C
-0.557	A	-0.050	0.538 ⁺
-0.507	B		0.589 [*]
-1.096	C		

** P <0.01; * P <0.05; +P <0.1

2.3.3. Fertilidade

A idade não afetou o número de ovelhas paridas (fertilidade) em resultado da IA ($p > 0.05$).

Tabela 13 Diferença entre ODDS-Ratio, idade vs Fertilidade

OR	Grupos de idade	2	3
-1.667	A	0.057	0.679 [*]
-1.724	B		0.622 [*]
-2.346	C		

** P <0.01; * P <0.05; +P <0.1

2.3.4. Prolificidade

As médias ajustadas por grupos etários apresentaram uma correlação positiva com a prolificidade ($p < 0.05$). As ovelhas do grupo C apresentaram um valor de prolificidade inferior às da classe etária A e B ($p < 0.05$) (tabela 15).

Tabela 14 Médias ajustadas e erro padrão da prolificidade por grupos

Grupos de idade	Média ajustada, EP
A	1.32+-0.14 [*]
B	1.41+- 0.12 [*]
C	1.05+-0.16

*P <0.05

2.4. Local de deposição do sémen

No total das 419 IA efetuadas, foram inseminadas 388 ovelhas por via cervical (n=388) e 31 ovelhas por via vaginal (n=31).

Na tabela 16 podemos observar as % de ovelhas gestantes e paridas em relação ao local de deposição do sémen (cervical e vaginal). Verificou-se que quando a inseminação foi cervical as taxas de Dg+ (40%) e de fertilidade (27%) foram superiores à deposição vaginal Dg+ (32.3%) e (9.7%) respetivamente.

Tabela 15 Tabela de frequências por local de deposição do sémen.

		Dg+%	Fertilidade %
Local de deposição do sémen	Cervical	40.0 (n=155)	27.0(n=105)
	Vaginal	32.3 (n=10)	9.7(n=3)

2.4.1. Análise de regressão logística em relação às variáveis de resposta.

Na tabela 17 podemos verificar os P-values das variáveis de resposta associados ao fator local de deposição do sémen.

Tabela 16 P-values das variáveis de resposta no nosso estudo para o fator: tipo de IA

Local de deposição do sémen	P-values
Dg+	0.184
Fertilidade	0.019
Prolificidade	0.705

2.4.2. Diagnóstico de Gestação

Podemos verificar na tabela 18 que a probabilidade de uma ovelha ficar gestante quando o sémen foi depositado no cérvix foi igual á quando depositamos o sémen na vagina ($p > 0.05$).

Tabela 17 Diferenças de ODDS-Ratio para a variável Dg+ e tipo de IA

OR	Local de deposição do sémen	Vaginal
-0.433	Cervical	0.574
-1.006	Vaginal	

** P <0.01; * P <0.05; +P <0.1

2.4.3. Fertilidade

Na tabela 19 podemos verificar que segundo os nossos dados a probabilidade de uma ovelha parir resultado de uma inseminação cervical é 1.523 maior ($p < 0.05$) do que quando o sémen é depositado na vagina.

Tabela 18 ODDS- Ratio para a variável fertilidade e tipo de IA

OR	Local de deposição do sémen	Vaginal
-1.150	Cervical	1.523*
-2.674	Vaginal	

** P <0.01; * P <0.05; +P <0.1

2.4.4. Prolificidade

A prolificidade não foi significativa para o local de deposição do sémen à IA ($p > 0.05$). Na tabela 20 podemos verificar os valores das médias ajustadas.

Tabela 19 Valores de média ajustada e erro padrão da prolificidade.

Local de deposição do sémen	Médias ajustadas +- EP
Cervical	1.32+-0.06
Vaginal	1.23+-0.22

2.5. Condição corporal (CC)

Não foi possível demonstrar estatisticamente o efeito da CC em nenhuma das variáveis analisadas, pelo facto de que não se registou os valores de CC de uma exploração, desta forma a variável não foi considerada no modelo estatístico. Na tabela 17

encontra-se o nº de animais inseminados por categoria, e taxas de Dg+ e fertilidade relativas às várias categorias de CC.

Tabela 20 Análise da fertilidade por categorias de CC: Número de fêmeas inseminadas, taxa de Dg+ e taxa de fertilidade. São 3 categorias (1) corresponde a animais 2; 2.5 na CC, (2) que corresponde a animais 3;3.5 na CC, e (3) animais que correspondem a valores > 4 na CC.

Raça	Categorias de CC	Nº de fêmeas inseminadas	Taxa de Dg+ (n)	Taxa de fertilidade
MP	2;2.5	14	50%(n=7)	43%(n=6)
	3;3.5	49	41%(n=20)	29%(n=14)
	>4	93	30%(n=28)	28%(n=26)
MB	2;2.5	27	30%(n=8)	19%(n=5)
	3;3.5	109	35%(n=38)	18%(n=20)
	>4	66	38%(n=25)	20%(n=13)
Total		358	35%(n=126)	23%(n=84)

3. Discussão

3.1. Raça

No presente trabalho o fator raça não entrou para o modelo estatístico. Na bibliografia (Anel et al., 2005; Kaabi et al., 2006; Papadopoulos et al., 2005) demonstraram que a raça da ovelha é um fator com impacto na fertilidade após a IA. Esta variação entre raças pode acontecer por vários motivos. Uma das sugestões propostas é a diferença a nível da conformação cervical, o que pode dificultar a penetração do pistolet e causar danos epiteliais, que afetam a taxa de concepção (Kaabi et al., 2006). Nesse estudo as raças que produziram menor fertilidade após a IA, resultaram em maior complexidade cervical e atingiram menor grau de penetração cervical do cateter durante o procedimento de IA (Kaabi et al., 2006). Num estudo realizado por Anel et al., (2005) identificou-se que o cervix da raça Churra apresentava uma morfologia peculiar, caracterizada por uma menor dimensão e mais pregas cervicais do que outras raças. Essas diferenças implicariam uma maior dificuldade na IA e podem explicar, pelo menos parcialmente, a variação da fertilidade entre as raças. Uma vez que as duas raças consideradas no nosso trabalho eram ambas de raça

Merina justifica-se a não observação do efeito da raça no sucesso à IA, uma vez que não são expectáveis diferenças a nível da conformação cervical.

3.2. Exploração

No presente trabalho, o fator exploração influenciou o sucesso da IA. Segundo estudos anteriores (Anel et al., 2005; Santolaria et al., 2011), está descrito que a exploração é um fator com impacto significativo no sucesso da IA, podendo isto dever-se a inúmeras variáveis. O resultado pode ser explicado nas diferenças de manejo entre explorações e a interação humana em cada rebanho (Santolaria et al., 2011). Segundo Anel, et al., (2005) O planeamento reprodutivo (intervalo entre partos, estação do ano, idade da primeira cobrição) e a manipulação dos animais (alimentação, saúde, preparação de lotes de IA, etc.), demonstraram ter um grande impacto nos resultados de fertilidade. Desconhecemos o tipo de manejo em cada uma das explorações estudadas, o que torna difícil inferir sobre os possíveis motivos que determinaram os diferentes resultados entre as explorações.

3.3. Idade

No presente trabalho concluiu-se que o fator idade teve impacto no sucesso da IA. Os efeitos da idade sobre a fertilidade após a IA encontram-se extensamente descritos. (Anel et al., 2005; David, Robert-Granié, Manfredi, Lagriffoul, & Bodin, 2008; FUKUI et al., 2010; Palacín et al., 2012). O nosso estudo demonstrou um efeito significativo da idade na % Dg+. As ovelhas dos grupos até aos 6 anos apresentaram uma maior probabilidade de estar prenhas ($p < 0.05$), que as ovelhas com idades superiores. Quanto à prolificidade, observou-se a mesma diferença entre classes etárias.

Os nossos resultados estão de acordo com (Anel et al., 2005; FUKUI et al., 2010; Palacín et al., 2012), que relataram que a taxa de prenhez e a de fertilidade diminuíram significativamente com o aumento da idade e verificaram uma diminuição no sucesso da IA com o aumento da idade da fêmea. Anel et al., (2005) num estudo com IA cervical, descreveu que o número de borregos nascidos por ovelhas inseminadas diminuiu 1.74% a partir dos 1.5 anos.

Este efeito pode ser explicado pelo facto de que, ovelhas mais velhas têm riscos aumentados de distúrbios reprodutivos e taxas de ovulação diminuídas e com menos óócitos ovulados de qualidade, comparativamente com ovelhas mais jovens de acordo com Selaive-Villarroel and Kennedy (1983) citados por Palacín et al., (2012).

3.4. Local de deposição do sémen

No presente trabalho o fator local de deposição do sémen influenciou o sucesso da IA, algo que está descrito na bibliografia. Santolaria et al., (2011), demonstraram que profundidade e a deposição do sémen o mais perto possível da junção útero-tubárica têm impacto positivo no sucesso da técnica de IA, Kaabi et al (2006), demonstraram que ocorreu uma correlação positiva entre a profundidade da IA cervical e a fertilidade.

Os nossos resultados estão de acordo com a bibliografia, observou-se que a taxa de fertilidade variou entre local de deposição do sémen, cervical ($p < 0.05$) em relação à deposição vaginal, no entanto não se verificou para o Dg+. A deposição cervical do sémen também apresenta aspetos negativos. Kaabi et al, relataram que devem ser tomados cuidados especiais, de forma a evitar trauma cervical, com a passagem do cateter durante a IA, já que tem sido associado a reduções na taxa de prenhez por um possível trauma desta estrutura. É possível que este trauma induza a libertação de um composto espermicida, reduzindo os resultados. (Hawk, 1983).

Embora tenha sido identificado um efeito significativo do local de deposição do sémen no sucesso à IA, em termos do número de ovelhas paridas, tal não seria expectável uma vez que neste trabalho a IA foi cervical na maioria das ovelhas.

3.5. Condição corporal (CC)

No presente trabalho a CC, foi retirada do modelo estatístico. No entanto a CC está reportada como um fator importante no sucesso da IA por via cervical em ovinos (FUKUI et al., 2010; Santolaria et al., 2011). Segundo Fukui et al., (2010), a CC demonstrou ser um fator importante na fertilidade após IA. Este mesmo autor demonstrou que ovelhas com uma baixa CC (1.5-2) apresentaram taxas de concepção inferiores do que ovelhas com CC intermédias (odds ratio = 1.43) e elevadas CC (odds ratio = 1.34).

Independentemente do peso corporal, estima-se que as ovelhas nulíparas, com menos de 3 anos de idade e com uma ECC superior a 3,0, tenham maior fertilidade que ovelhas noutras condições (Santolaria et al., 2011)

Conclusão

Tendo em conta os resultados obtidos no presente estudo pode-se concluir que os fatores exploração, idade e local de deposição do sémen, são fatores com impacto significativo no sucesso da IA, influenciando a % Dg+ a % fertilidade e a prolificidade após a IA, em ovinos da raça merina, com sémen refrigerado.

Estes fatores devem ser levados em consideração, de forma a avaliar o desempenho da técnica e tomar decisões para melhorar os resultados, em programas de melhoramento nesta espécie. Em relação ao fator exploração, as técnicas de manejo entre explorações devem ser melhoradas e atualizadas, apostando numa melhoria da manipulação dos animais a nível de alimentação, saúde, etc. A utilização de animais com mais de 6 anos em programas de IA devem ser evitados, apenas usadas em acasalamento natural, pois esta categoria etária demonstrou ter menor sucesso, valores inferiores de % Dg+, % e prolificidade que as restantes. No fator local de deposição de sémen, deve-se tentar depositar o sémen no cérvix o mais profundo possível. No entanto, é sugestível procurar técnicas que não sejam as convencionais, porque a utilização de um pistolet direito, pode traumatizar o cérvix e desencadear processos inflamatórios, que podem pôr em causa a viabilidade embrionária e reduzir as taxas de concepção, logo as taxas de parto e, desta forma, afetar o programa de melhoramento.

Como ideias de estudos futuros, seria interessante com uma amostra populacional mais alargada e homogénea, aferir-se sobre o impacto do fator raça, CC ou outros menos explorados como por exemplo o técnico que realiza as inseminações, visto que está descrito que este pode influenciar positivamente o sucesso da IA.

Bibliografia

- Abecia, J. A., Forcada, F., & González-Bulnes, A. (2011). Pharmaceutical Control of Reproduction in Sheep and Goats. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 27(1), 67–79. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2010.10.001>
- Anel, L., Kaabi, M., Abroug, B., Alvarez, M., Anel, E., Boixo, J. C., ... De Paz, P. (2005). Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: A field assay. *Theriogenology*, 63(4), 1235–1247. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.07.001>
- ANCORME, Associação Nacional de Criadores de Ovinos de Raça Merina (2008). Acedido a 22 de Outubro de 2019 em: <http://www.merina.com.pt>
- Baldassarre, H., & Karatzas, C. N. (2004). Advanced assisted reproduction technologies (ART) in goats. *Animal Reproduction Science*, 82–83, 255–266. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.027>
- Baril, G., Brebion, P., Chesne, P., 1993. Manuel de formation pratique pour la transplantation embryonnaire chez la brebis et la chèvre. Étude FAO: Production et santé animales. FAO Ed., No. 115.
- Bettencourt, C. (2015). Centro de Reprodução Animal da Herdade da Abóbada (CRHA), 1–3.
- Bru, C., Fantova, E., Sevilla, E., Quintin, F.J. & Alabart, J.L. (1995) Resultados de inseminación artificial de las ovejas Rasa aragonesa de las ganaderías de Carne Aragón, S.C.L. Influencia de la condición corporal, Proceedings of: XX Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia., Madrid (España)
- Carolino, N. (2015). I Simpósio Internacional de Raças Nativas: Sustentabilidade e Propriedade Intelectual. Teresina
- Carvalho, A. B. (2017). *CRIOPRESERVAÇÃO DE SÊMEN COMO ESTRATÉGIA DE CONSERVAÇÃO DE RAÇAS AUTÓCTONES OVINAS E CAPRINAS*. Lusófona de Humanidades e Tecnologias.
- Casao, A., Cebrian, I., Asumpcao, M.E., Perez-Pe, R., Abecia, J.A., Forcada, F., Cebrian-Perez, J.A. & Muino-Blanco, T. (2010a). Seasonal variations of melatonin in ram seminal

plasma are correlated to those of testosterone and antioxidant enzymes. *Reproductive Biology and Endocrinology*, Vol.8, (Jun)

David, I., Robert-Granié, C., Manfredi, E., Lagriffoul, G., & Bodin, L. (2008). Environmental and genetic variation factors of artificial insemination success in French dairy sheep. *Animal*, 2(7), 979–986. <https://doi.org/10.1017/S1751731108002152>

Eppleston, J., Salamon, S., Moore, N.W. & Evans, G. (1994). The depth of cervical insemination and site of intrauterine insemination and their relationship to the fertility of frozen-thawed ram semen. *Animal Reproduction Science*, Vol.36, No.3-4, (Sep), pp. 211-225, 0378-4320

FAO, (2007). Plano de Ação Mundial para os Recursos Genéticos Animais e Declaração de Interlaken. Conferência Técnica Internacional sobre Recursos Genéticos Animais para a Alimentação e a Agricultura Interlaken. Embrapa. Suíça.

FAO. (2010). *Breeding strategies for sustainable management of animal genetic resources*.

FAOSTAT. (2017). FAOSTAT. Acedido em Out. 15, 2019, disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data>

Fatet, A., Pellicer-Rubio, M. T., & Leboeuf, B. (2011). Reproductive cycle of goats. *Animal Reproduction Science*. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.029>

Frandsen, R. D., Wilke, W. L., & Fails, A. D. (2013). *Anatomy and Physiology of Farm Animals*.

FUKUI, Y., KOHNO, H., OKABE, K., KATSUKI, S., YOSHIZAWA, M., TOGARI, T., & WATANABE, H. (2010). Factors Affecting the Fertility of Ewes after Intrauterine Insemination with Frozen-Thawed Semen During the Non-Breeding Season. *Journal of Reproduction and Development*, 56(4), 460–466. <https://doi.org/10.1262/jrd.10-015t>

Gama, L. T., & Bressan, M. C. (2011). Biotechnology applications for the sustainable management of goat genetic resources. *Small Ruminant Research*, 98(1–3), 133–146. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.03.031>

Hammond, J. (1960). *Physiology of reproduction*. *Nature* (Vol. 185). <https://doi.org/10.1038/185492a0>

Hawk, H. W. (1983). Sperm Survival and Transport in the Female Reproductive Tract. *Journal of Dairy Science*, 66(12), 2645–2660. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(83\)82138-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(83)82138-9)

INE. (2011). Censos 2011. Acedido em Outubro. 15, 2019, disponível em: http://censos.ine.pt/xportal/xmain?xpgid=censos2011_apresentacao&xpid=CENSOS.

Intervet International. (2007). Compêndio de Reprodução Animal, 382.

Jones, A. K., Gately, R. E., McFadden, K. K., Zinn, S. A., Govoni, K. E., & Reed, S. A. (2016). Transabdominal ultrasound for detection of pregnancy, fetal and placental landmarks, and fetal age before Day 45 of gestation in the sheep. *Theriogenology*, 85(5), 939-945.e1. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.11.002>

Kaabi, M., Alvarez, M., Anel, E., Chamorro, C. A., Boixo, J. C., de Paz, P., & Anel, L. (2006). Influence of breed and age on morphometry and depth of inseminating catheter penetration in the ewe cervix: A postmortem study. *Theriogenology*, 66(8), 1876–1883. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.04.039>

King, M.E., McKelvey, W.A., Dingwall, W.S., Matthews, K.P., Gebbie, F.E., Mylne, M.J., Stewart, E. & Robinson, J.J. (2004). Lambing rates and litter sizes following intrauterine or cervical insemination of frozen/thawed semen with or without oxytocin administration. *Theriogenology*. Vol.62, pp.1236-44, 0093-691X

Kukovics, S., Gyoker, E., Nemeth, T., & Gergatz, E. (2011). Artificial Insemination of Sheep - Possibilities, Realities and Techniques at the Farm Level. *Artificial Insemination in Farm Animals*. <https://doi.org/10.5772/16642>

Maia, M. (2010). Tecnologia do sêmen e inseminação artificial em caprinos e ovinos. Revisto por Maria de Fátima Pinto Barreto. Natal: EMPARN.

Manafi, M. (2011). *Artificial Insemination in Farm Animals*. (M. Manafi, Ed.), *Artificial Insemination in Farm Animals*. Janeza Trdine 9, 51000 Rijeka Croatia. <https://doi.org/10.5772/17943>

Osuagwuh, U. I., & Palomo, M. J. (2017). Effect of semen washing on thawed ram spermatozoa subjected to a four hour post-thawing thermal evaluation test. *Small Ruminant Research*, 155(July), 81–86. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.09.010>

Palacín, I., Yániz, J. L., Fantova, E., Blasco, M. E., Quintín-Casorrán, F. J., Sevilla-Mur, E., & Santolaria, P. (2012). Factors affecting fertility after cervical insemination with cooled semen in meat sheep. *Animal Reproduction Science*, 132(3–4), 139–144. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.05.005>

Papadopoulos, S., Hanrahan, J. P., Donovan, A., Duffy, P., Boland, M. P., & Lonergan, P. (2005). In vitro fertilization as a predictor of fertility from cervical insemination of sheep.

Theriogenology, 63(1), 150–159. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.04.015>

Pugh, D. G., & Baird, A. N. (2012). *Sheep and Goat Medicine*. (D. G. Pugh & A. N. Baird, Eds.) (2ª Edição). 3251 Riverport Lane Maryland Heights, Missouri 63043.

Ridler, A. L., Smith, S. L., & West, D. M. (2012). Ram and buck management. *Animal Reproduction Science*, 130(3–4), 180–183. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.01.012>

Russel, A.J.F., Doney, J.M., Gunn, R.G., 1969. Subjective assessment of body fat in live sheep. *J. Agric. Sci.* 72, 451–454

Salamon, S., & Maxwell, W. M. C. (2000). Storage of ram semen. *Animal Reproduction Science*, 62(1–3), 77–111. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00155-X](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00155-X)

Santolaria, P., Palacin, I., & Yaniz, J. (2011). Management Factors Affecting Fertility in Sheep. *Artificial Insemination in Farm Animals*. <https://doi.org/10.5772/18013>

Scott, P. R. (2012). Applications of diagnostic ultrasonography in small ruminant reproductive management. *Animal Reproduction Science*, 130(3–4), 184–186. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.01.013>

Smith, B.P. (2015). *Large Animal Internal Medicine*. 5ªEd. Mosby.

SPREGA, Sociedade Portuguesa de Recursos Genéticos Animais (2016). Acedido a 25 de Outubro de 2019 em: <http://www.sprega.com.pt>

Vítor, A. C. M. de M. (2018). *Sistemas de produção ovina de carne e de leite no baixo Alentejo: caracterização do concelho de Mértola*. Retrieved from <https://www.repository.utl.pt/handle/10400.5/15251>

Anexos

Anexo I - Protótipo racial do regulamento do registo Zootécnico da raça Merina Preta.

Cabeça	De tamanho médio, larga e curta. Perfil craniano subconvexo. Chanfro recto nas fêmeas e convexo nos machos. Boca grande, com lábios grossos. Olhos grandes e expressivos, com arcadas orbitais não muito salientes. Orelhas pequenas e horizontais. Cornos ausentes nas fêmeas, mas frequentes nos machos, enrolados em espiral mais ou menos fechados, rugosos e de secção triangular. Bem revestida de lã, a qual recobre por vezes, parte das faces e do frontal.
Tronco	De volume mediano. Garrote pouco destacado, seguido duma linha dorsolombar horizontal. Espádua regularmente proporcionada e desenvolvida. Costado medianamente arqueado. Ventre desenvolvido. Dorso e rins de comprimento e largura médios. Garupa curta e ligeiramente descaída. No seu conjunto, o tronco apresenta um todo harmonioso.
Pele, Velo e Lã	Pele fina, untuosa e sem pigmentação. Velo preto muito extenso e tochado, com madeixas cilíndricas ou quadradas, regularmente homogéneo, cobrindo a cabeça, ventre e membros quase até às unhas e testículos.
Úbere	Largo e bem inserido, com tetos curtos mas bem implantados.
Membros	Fortes e regularmente aprumados. Curvilhões grossos, tal como as restantes articulações. Revestimento lanar, em geral, abaixo dos joelhos e dos

	curvilhões.
--	-------------



Figura 5. Ovelhas da raça merina preta, reproduzido de padrão da raça, retirado dia 19 de Julho de 2019 de <http://www.merina.com.pt/conteudo.php?idm=13>

Anexo II -Protótipo racial do regulamento do registo Zootécnico da raça Merina Branca



Figura 6 Animal de raça Merina Branca, reproduzido de Padrão da raça, Retirado a 19 de Julho de 2019 de <http://www.merina.com.pt/conteudo.php?idm=6>

Cor	Branca
Cabeça	De tamanho médio, larga e curta. Perfil craniano subconvexo. Chanfro recto nas fêmeas, mais ou menos recto convexo nos machos. Boca grande, com lábios grossos. Olhos grandes e expressivos, com arcadas orbitais não muito salientes. Orelhas pequenas e horizontais. Cornos ausentes nas fêmeas, mas frequentes nos machos, enrolados em espiral mais ou menos fechada, rugosos e de secção triangular. Bem revestida de lã, a qual recobre por vezes, parte das faces e do frontal.
Pescoço	Curto e bem revestido de lã. Por vezes, uma pequena barbela. Em geral, sem pregas.
Tronco	De volume mediano. Garrote pouco destacado, seguido duma linha dorsolombar horizontal. Espádua regularmente proporcionada e desenvolvida. Costado medianamente arqueado. Ventre desenvolvido. Dorso e rins de comprimento e largura médios. Garupa curta e ligeiramente descaída. No seu conjunto, o tronco apresenta um todo harmonioso.

Pele	Fina, untuosa e sem pigmentação.
Úbere	Largo e bem inserido, com tetos curtos mas bem implantados.
Membros	Fortes e regularmente aprumados. Curvilhões grossos, tal como as restantes articulações. Revestimento lanar, em geral, abaixo dos joelhos e dos curvilhões.
Velo	Muito extenso e tochado, com madeixas cilíndricas ou quadradas. Regularmente homogéneo, recobre a cabeça, todo o pescoço, o ventre, os membros quase até às unhas e os testículos.